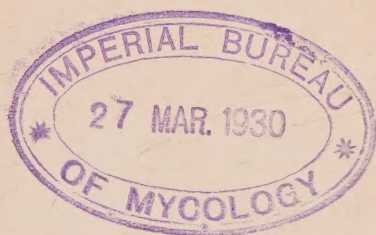


Egham books

Shelve at
Van Hall.



BIJDRAGEN TOT DE KENNIS DER
BAKTERIEELE PLANTENZIEKTEN.

Bijdragen tot de kennis der Bakterieele Plantenziekten.

Academisch Proefschrift

TER VERKRIJGING VAN DEN GRAAD VAN

Doctor in de Plant- en Dierkunde

AAN DE UNIVERSITEIT VAN AMSTERDAM,

OP GEZAG VAN DEN RECTOR-MAGNIFICUS

DR. P. K. PEL,

HOOGLEERAAR IN DE FACULTEIT DER GENEESKUNDE.

IN HET OPENBAAR TE VERDEDIGEN

IN DE AULA DER UNIVERSITEIT,

op Woensdag 21 Mei 1902, des namiddags ten 4 ure

DOOR

CONSTANT JOHAN JACOB VAN HALL,

geboren te Utrecht.

AMSTERDAM

COÖPERATIEVE DRUKKERIJ-VEREENIGING „PLANTIJN”

1902.

Bijdragen tot de kennis der bacterieele plantenziekten.

Blz.

INLEIDING.	I
--------------------	---

EERSTE GEDEELTE. Overzicht van den huidigen staat van onze kennis der bacterieele plantenziekten.

HOOFDSTUK I. Algemeene opmerkingen. .	9
HOOFDSTUK II. Overzicht der ziekten, wier bacterieele aard bewezen is	22
A. Vaatziekten.	

§ 1. De zwartnervigheid der kool en aanverwante Cruciferen, veroorzaakt door <i>Pseudomonas</i> <i>campestris</i> (PAMMEL) SMITH	22
§ 2. De ziekte der Solaneën, veroorzaakt door <i>Bacillus Solanacarum</i> SMITH	28
§ 3. De verwelkingsziekte („wilt-disease”) der Cucurbitaceën, veroorzaakt door <i>Bacillus</i> <i>tracheiphilus</i> SMITH	32
§ 4. Het geel- of nieuwziek der hyacinthen,	

veroorzaakt door <i>Pseudomonas Hyacinthi</i> (WAKKER) SMITH	33
§ 5. De bakteriële gummosis van de suikerbiet, veroorzaakt door <i>Bacillus Betae</i> BUSSE.	39
§ 6. De maïsziekte („corn-wilt”) veroorzaakt door <i>Pseudomonas Stewarti</i> SMITH	42
B. Ziekten van het parenchym, die niet gepaard gaan met rottingsverschijnselen.	
§ 7. „Fire-blight” („twig-blight” of „anthrax”) van pereboom, appelboom en eenige andere gewassen, veroorzaakt door <i>Bacillus amylovorus</i> (BURRILL) DE TONI	44
§ 8 De seringenziekte, veroorzaakt door <i>Pseudomonas Syringae</i> nov. spec	49
§ 9 De knobbelziekte der olijven, veroorzaakt door <i>Bacillus oleae</i> (ARCHANGELI) TREV. (= <i>Bacillus oleae tuberculosis</i> SAVASTANO)	50
§ 10. De vlekziekte der boonen, veroorzaakt door <i>Pseudomonas Phaseoli</i> SMITH. . . .	53
C. Ziekten van het parenchym, die gepaard gaan met rottingsverschijnselen (rottingsziekten).	
§ 11. De rotting der aardappelknollen, veroorzaakt door <i>Bacillus solaniperda</i> KRAMER, <i>Bacillus solanacearum</i> SMITH, <i>Bacillus atrosepticus</i> nov. spec., en andere soorten	56
§ 12 De rotting der penen (<i>Daucus Carota</i>), veroorzaakt door <i>Bacillus carotovorus</i> JONES .	60
§ 13 De rotting der koolrapen, veroorzaakt	

	Blz.
door <i>Pseudomonas destructans</i> POTTER . . .	62
§ 14 De rotting der Irisplanten, veroorzaakt door <i>Pseudomonas Iridis</i> nov. spec. en <i>Bacillus omnivorus</i> nov. spec.	63
§ 15 De rotting der hyacinthen, veroorzaakt door <i>Bacillus Hyacinthi septicus</i> HEINZ . . .	63
HOOFDSTUK III. Overzicht der onvolledig bekende ziekten, die aan de werking van bakteriën toegeschreven worden	65
Aardappel: stengelrotting of „zwartbeenigheid” (<i>Bacillus atrosepticus</i> nov. spec.)	65
Moerbeiboom: vlekziekte (<i>Bacterium Mori</i> Boyer et Lambert == (?) <i>Bacillus Cubonianus</i> Macchiati) . . .	65
Maïs: „corn-blight” (<i>Bacillus Zeae</i> Burrill)	68
<i>Dactylis glomerata</i>	69
Aleppo-den: knobbelziekte (<i>Bacterium Pini</i> Vuillemin) . .	71
Zomerviolier	72
Suikerbiet: „la jaunisse”	72
Pruimeboom: „fire-blight”	74
Selderij: „bacteriosis” (<i>Bacillus Apii</i> (Brizi) Mig.) . .	74
Aardappel enz.: „stengelgangreen”. (<i>Bacillus caulivorus</i> Pr. et Del.)	76
<i>Oncidium</i> : bladziekte (<i>Bacterium Oncidii</i> Peglion) . .	77
Hennep: „bacteriosis”	78
Schorseneer: rotting der wortelstokken	79
Katoen: rotting der vruchten (<i>Bacillus gossypina</i> Stedman)	79
Tomaat: rotting der vruchten	80
Uien: rotting der bollen	80
Sorghum: „brand” of „roodziek” (<i>Bacillus Sorghi</i> Burrill)	81
Noteboom: vlekziekte der vruchten (<i>Pseudomonas Ju- glandis</i> Pierce)	83
Wijnstok: bacteriose der druiven (<i>Bacillus uvae</i> Cugini et Macchiati)	83
Wijnstok: „rogn della vite” (<i>Bacillus ampelopsorae</i> Trev.)	84
Wijnstok: „maladie d’Oléron	85
Wijnstok: gummosis of „mal nero” (<i>Bacillus gummis</i> Comes)	85
Aardappel: „schurft”	87

Lupine: „bacteriose” (<i>Bacillus elegans</i> Hegyi) . . .	87
Tarwe: corrosie der korrels	88
Aardbeien-ziekte	88
Sla-ziekte	89
Besseboom-ziekte	89
Suikerriet: gomziekte (<i>Bacillus vascularum</i> Cobb) . .	89
Esch: kanker	89
Loofboomen: slijmvoed	90

AANHANGSEL. Ziekten, die ten onrechte aan de werking van bacteriën zijn toegeschreven 91

Anjelier: „bacteriosis”	91
Tabak: mozaiekziekte	91
Suikerriet: Sereh-ziekte	91

TWEEDE GEDEELTE. Eigen onderzoe- kingen.

HOOFDSTUK I. *Bacillus subtilis* (EHRENBERG) COHN en *Bacillus vulgatus* (FLÜGGE) MIG. als rottingsparasieten. 94

§ 1. Het optreden dezer beide bacteriën als parasieten bij infectie van plantendeelen met aarde 94

§ 2. *Bacillus subtilis* als rottingsparasiet . . 99

Optreden van deze bakterie, 99. Variabiliteit der bakterie, 101.
Infectieproeven, 102. Verloop van het rottingsproces, 105.
Toxine, 108.

§ 3. *Bacillus vulgatus* als rottingsparasiet . . 111

Optreden van deze bakterie, 111. Variabiliteit, 112. Infectie
proeven, 112. Verloop van het rottingsproces, 114. Toxine, 114.

§ 4. Conclusie. 115

HOOFDSTUK II. De rottingsziekte van Iris

florentina en <i>Iris germanica</i> , veroorzaakt door <i>Pseudomonas Iridis</i> nov. spec. en <i>Bacillus omnivorus</i> nov. spec.	116
Ziektesymptomen, 116. Bakteriele toestand, 117. Infectieproeven, 120. Pathologische anatomie, 126, Toxine, 127	
HOOFDSTUK III. De stengelrotting of „zwart-beenigheid” der aardappelstruiken, veroorzaakt door <i>Bacillus atrosepcticus</i> nov. spec. .	134
HOOFDSTUK IV. De seringenziekte, veroorzaakt door <i>Pseudomonas Syringae</i> nov. spec.	
HOOFDSTUK V. Beschrijving der nieuw-gevonden bakteriesoorten	147
§ 1. Algemeene opmerkingen over het beschrijven van een bakteriesoort.	147
§ 2. Beschouwing van eenige kenmerken der bacteriën en beschrijving der gevolgde methodiek	150
Morphologische eigenschappen: Afmetingen der bacteriën, 150. Geesels, 151.	
Physiologische eigenschappen: Uiterlijk der verschillende culturen, 151. Temperatuur, 152. Zuurstofbehoefte, 153. Reductie van kleurstoffen, 154. Reductie van nitraten, 156. Reductie van selenieten, 157. Voedingswaarde van verschillende koolstof- en stikstofverbindingen (nagegaan door middel der auxanographische methode). 157. Productie van zuren en alcaliën. 164. Productie van indol, 166. Productie van zwavelwaterstof, 166. Productie van gassen, 166. Vorming van glycogeen en vet, 166. Weerstandsvermogen tegen uitdroging, 167. Groeibelemmering door zuren, 167.	
§ 3. Beschrijving van <i>Pseudomonas Iridis</i> nov. spec.	168

§ 4 Beschrijving van <i>Bacillus omnivorus</i> nov.	
spec.	176
§ 5 Beschrijving van <i>Bacillus atrosepticus</i> nov.	
spec.	184
§ 6 Beschrijving van <i>Pseudomonas Syringae</i>	
nov. spec.	191

INLEIDING.

In de handboeken over algemeene bakteriologie, zoowel als in de phytopathologische, zijn de bacterieele plantenziekten tot nu toe steeds zeer stiefmoederlijk en weinig kritisch behandeld en het door MIGULA in 1897 gegeven overzicht ¹⁾ is het eenige vrij uitvoerige en conscientieuse werk, dat over dit onderwerp geschreven is ²⁾.

Na dien tijd zijn echter zooveel nieuwe ziekten beschreven, van welke is vastgesteld of waarschijnlijk gemaakt, dat bakteriën de oorzaak zijn, en is onze kennis van de reeds beschrevene, vooral door infectieproeven, zoozeer vermeerderd, dat op dit oogenblik geen werk bestaat, hetwelk den stand van onze huidige kennis ook slechts in hoofdzaken weergeeft. Ik heb het daarom gewenscht geoordeeld een overzicht der plantenziekten, welke door bakteriën veroorzaakt worden of van welke vermoed wordt, dat dit het geval is, aan mijn eigen onderzoekingen te laten voorafgaan.

In het Tweede Gedeelte van dit proefschrift zijn

¹⁾ System der Bakteriën I blz. 312—322.

²⁾ Een jaar te voren verscheen een publicatie van ERWIN F. SMITH, „The bacterial diseases of plants. Critical review etc.” (American Naturalist 1896—1897) waarin eenige weinige bacterieele ziekten zeer uitvoerig besproken worden. Dit overzicht is echter onvolledig.

beschreven de resultaten van mijn eigen onderzoekingen, die in de eerste plaats ten doel hadden, na te gaan, of er onder de vulgaire en algemeen verspreide grondbakteriën, welke gewoonlijk saprophytisch leven, ook soorten te vinden waren met voor de planten toxische eigenschappen en die dus in staat zouden zijn onder gunstige omstandigheden van temperatuur en atmosfeer als rottingsparasieten op te treden. De resultaten van dit onderzoek waren, dat, althans onder de condities, waarbij ik experimenteerde, alleen twee soorten uit de groep der hooibakteriën, nl. *Bacillus subtilis* (Ehrenberg) Cohn en *Bacillus vulgatus* Flügge, die eigenschappen in merkbare mate bezaten, maar slechts bij zoo hooge temperatuur (niet beneden de 30 °), dat zij wel nooit, althans niet in ons klimaat, in het vrije veld als plantenparasieten zullen kunnen optreden.

Vervolgens was ik in den zomer van 1901 in de gelegenheid twee bacterieele plantenziekten nader te bestudeeren, waarvan de eene, de Irisziekte, nog onbekend, de andere daarentegen, de stengelrotting of «zwartbeenigheid» der aardappels, sedert lang bekend doch nog onvolledig bestudeerd was. Het isoleeren der virulente bakteriën was in beide gevallen een lichte taak, daar geen andere soorten in de aangetaste deelen bleken voor te komen. De infectieproeven hadden, wat de Iris-ziekte betreft, zeer overtuigende resultaten en het onderzoek naar de oorzaak van deze rotting zou dan ook in hoofdzaak als voltooid kunnen beschouwd worden, indien het niet gebleken ware, dat twee verschillende bak-

teriesoorten op het aangetaste veld als rottingsparasieten waren opgetreden en dat nu eens de eene dan weer de andere soort de oorzaak der ziekte was. De mogelijkheid bestaat, dat het aantal dezer parasieten nog grooter is en dat nog meer bacteriesoorten te vinden zullen zijn, die op hetzelfde veld dezelfde ziektesymptomen aan de Irissen veroorzaken. Bij de voortzetting van het onderzoek zal deze kwestie nog dienen nagegaan te worden.

Het onderzoek van de aardappelziekte kon niet zoo ver voortgezet worden; vooral de infectieproeven konden nog niet op zoo ruime schaal genomen worden, als wel gewenscht ware geweest en het over deze ziekte vermelde moet dan ook slechts als een «voorloopige mededeeling» beschouwd worden.

Hetzelfde geldt voor het onderzoek der seringenziekte. Sedert verscheiden jaren is deze kwaal bekend en haar bacterieele natuur vermoed; maar een volledig onderzoek werd tot nu toe niet verricht. Een drietal jaren geleden echter isoleerde Prof. BEYERINCK de bacterie en volbracht een aantal welgeslaagde infecties, waarvan hij resultaten evenwel niet publiceerde; de bacterie zelf werd ook nog niet nader bestudeerd. Ik had mij voorgesteld in den zomer van 1901 in de gelegenheid te zijn deze ziekte na te gaan, den parasiet te isoleren en infectieproeven te nemen, maar daar de kwaal in dat jaar, in tegenstelling met vorige jaren, geheel uitbleef, zoowel te Naarden als te Boskoop, moest ik van mijn voornemen afzien en mij er voorloopig toe bepalen een beschrijving te geven der door Prof. BEYERINCK

geïsoleerde soort, van welke deze zoo goed was mij een cultuur te doen toekomen.

Het beschrijven der pathogene bakteriën is uit een phytopathologisch oogpunt wel geen hoofdzaak, maar toch is het zeer gewenscht van een parasiet een duidelijke beschrijving te hebben, teneinde bij verschillende ziektegevallen op het veld na te kunnen gaan, of een reeds bekende parasiet de oorzaak is. De in zwang zijnde methoden der bakteriënbeschrijving zijn echter grootendeels hoogst onpractisch en de daarmee tot stand gebrachte beschrijvingen zijn zelfs zoo vaag, dat zij meestentijds als nutteloos kunnen beschouwd worden. Een dergelijke beschrijving te geven van de vier nieuwe bakteriesoorten, kwam niet in mij op en er schenen mij slechts twee wegen open: òf de soorten niet te beschrijven en hen alleen in cultuur te houden, zoodat ieder, die er kennis mee wenschte te maken, in de gelegenheid zou zijn hen uit eigen aanschouwing te leeren kennen, òf te trachten de methode der beschrijving te wijzigen. Ik heb den laatsten weg gekozen en mij er op toegelegd, zooveel mogelijk kenmerken te vinden, die constant zijn en zich goed beschrijven laten. Doch dit eischte meer werk en meer tijd, dan ik mij aanvankelijk had voorgesteld en zodoende werd dit onderzoek een op zichzelf staande arbeid, die ik in een afzonderlijk laatste hoofdstuk beschreven heb.

Het onderzoek over het parasitisme der hooibacteriën ben ik begonnen op aansporing en onderleiding van Prof. BEYERINCK, die mij gedurende een

drietal maanden gastvrijheid verleende op zijn Laboratorium te Delft; het werd voltooid op het Phytopathologisch Laboratorium «Willie Commelin Scholten» te Amsterdam, waar ook de overige onderzoekingen, beschreven in het Tweede Gedeelte van dit proefschrift, verricht werden.

EERSTE GEDEELTE.

OVERZICHT VAN DEN HUIDIGEN STAAT VAN ONZE KENNIS
DER BAKTERIEELE PLANTENZIEKTEN.

HOOFDSTUK I.

Algemeene opmerkingen.

De tijd, dat vrij algemeen het bestaan van bakteriële plantenziekten door botanici en bakteriologen werd geloofchend, ligt nog niet ver achter ons en nog weinige jaren geleden meenden velen niet alleen, dat dergelijke ziekten nog nooit waren waargenomen, maar dachten ook te mogen voorspellen, dat bakteriën nooit eenige rol of althans nooit een belangrijke als plantenparasieten zouden kunnen spelen. Naar hun meening was de organisatie van de gezonde plant van dien aard, dat zij van nature beschermd was tegen het binnendringen dier vijanden en bovendien een medium vormde dat voor den groei en de vermenigvuldiging der bakteriën ongeschikt was, zoodat, zelfs ingeval deze door wonden in het plantenweefsel hadden kunnen terecht komen, hun voortwoekering toch onmogelijk zou zijn.

Immers hoe zouden de bakteriën in een gezonde plant kunnen dringen? Nog korter tijd geleden beweerde ALFRED FISCHER,¹⁾ dat de onbeschadigde („unverletzte”) plant alleen door de huidmondjes in open communicatie met de buitenwereld staat en de

¹⁾ ALFRED FISCHER. Vorlesungen über Bakteriën. (1897) bl. 131.

bakteriën dus hoogstens in de intercellulaire ruimten terecht zouden kunnen komen, waar geen voedsel, niets dan vochtige lucht, tot hun beschikking staat en voortwoekering dus onmogelijk is. Indringen in de cellen was uitgesloten, omdat de groote meerderheid der mikroben niet in staat is cellulose aan te tasten ¹⁾, maar zelfs al stonden voor hen de plantenweefsels open en bloot, dan zou toch de meestal zure reactie der plantensappen hun groei en vermeerdering beletten ²⁾. Ook als wondparasieten behoefde men de bakteriën dus niet te vreezen; bovendien, zelfs ingeval deze wisten te dringen in een verwond gedeelte en zich daar te vermenigvuldigen, werd hun immers de toegang tot de gezonde deelen al spoedig afgesneden door het kurkhuidje, waarmee de plant haar wonden pleegt te sluiten ³⁾. Neen, »offene Strombahnen, in denen eine Fortbewegung der Nahrungsflüssigkeit und damit eine Verbreitung der in ihr etwa befindlichen niederen Organismen stattfinden könnte« ⁴⁾ zouden noodig zijn voor de verspreiding der bakteriën en die ontbreken den planten. Er waren dus al redenen te over om het bestaan van bakteriëele plantenziekten onmogelijk te achten.

Weliswaar, deelden niet alle phytopathologen deze opvatting. SORAUER ⁵⁾ voorspelde reeds in 1886:

¹⁾ De Bary. Vorlesungen über Bakteriën 1900 bl. 172.

²⁾ Zie b.v. HARTIG. Baumkrankheiten 1899 en Pflanzenkrankheiten 1900 bl. 209.

³⁾ FISCHER. I. C.

⁴⁾ HARTIG. Pflanzenkrankheiten 1900 bl. 209.

⁵⁾ Handbuch der Pflanzenkrankheiten II. 1886 bl. 76.

»Es ist unzweifelhaft, dass man im Laufe der Zeit eine grosse Anzahl von Rotzkrankheiten erkennen wird«, terwijl in Amerika Burrill reeds in 1880 het »pear blight« (»fire blight«) en bij ons te lande WAKKER in 1883 het geelziek als een bakterieele ziekte beschreef.

Eerst in de laatste zes of zeven jaren echter zijn de meeste en ook de nauwkeurigste en meest overtuigende onderzoekingen op dit gebied verricht en deze zijn het, die bewezen hebben, dat alle vroeger geopperde bezwaren tegen de mogelijkheid van het parasiteeren der bakteriën in werkelijkheid niet bestonden. In dien tijd heeft dan ook een ommekeer plaats gevonden in de algemeene opvattingen. Duidelijk komt dit b.v. voor den dag, als wij nagaan wat FRANK nog in 1896 schreef en hoe drie jaar later zijn opvattingen waren gewijzigd. Nog in zijn »Pflanzenkrankheiten« (II 1896 bl. 20) meende hij: »dass befriedigender Beweis für die Annahme pathogener Bakterien noch nicht geliefert worden ist, und dass man vielfach bei Krankheiten, die durch eine andre Ursache veranlasst sein mögen oder deren Ursache nicht leicht aufzuklären war oder die wohl auch von den betreffenden Beobachtern zu ungenügend untersucht worden sind, sich mit der Annahme von Bakterien als Ursache zu helfen gesucht hat«. Maar toen WEHMER eenige jaren daarna de meening had uitgesproken ¹⁾, dat bij de rotting der aardappelen bakteriën uitsluitend secundair

¹⁾ Centr. f. Bakt. 2e Abth. IV bl. 737.

optreden, achte FRANK ¹⁾ het noodzakelijk die uitspraak te weerleggen en eigen onderzoekingen mee te deelen, waaruit hem gebleken was, dat een *Micrococcus*-soort in staat was, gezonde knollen tot rotting te doen overgaan.

Thans zal dan ook het aantal der phytopathologen, die niet aan bacterieele plantenziekten gelooven, wel zeer gering zijn en slechts een paar maal is in de laatste jaren nog een stem opgegaan om te verkondigen, dat deze ziekten niet zouden kunnen voorkomen. ALFRED FISCHER meende in zijn „Vorlesungen über Bakterien” (einde 1897) nog eens te moeten zeggen, dat bacteriën niet in de planten kunnen dringen en daar als parasieten optreden. ERWIN SMITH heeft het toen echter zijn plicht geacht, hiertegen te protesteeren en in den strijd, die daarop is gevolgd tusschen de beide onderzoekers, bleek wel, hoe onjuist de opvattingen van ALFRED FISCHER waren. Nog eens zijn toen alle bezwaren, die hij en zijn voorgangers (DE BARY, HARTIG e.a.) tegen de mogelijkheid van het parasitisme der bacteriën hadden aangevoerd, door ERWIN SMITH weerlegd.

Inderdaad is de plant van nature allerm minst gevrijwaard tegen het binnendringen der mikroben; de huidmondjes vormen niet den eenigen toegang tot het inwendige, de waterporen (emissariën), de stempel en de nectariën zijn eveneens plaatsen, waar de bacteriën in de gelegenheid zijn in de plant te

¹⁾ Centr. f. Bakt. 2e Abth. V bl. 98.

dringen en bovendien voedende sappen vinden, waarin zij zich kunnen vermeerderen ¹⁾. Zoo was dan ook WAITE in de gelegenheid aan te toonen, dat *Bacillus amylovorus*, de oorzaak van het „pear-blight” in Amerika, door bijen in de bloemen (in de nectariën en op den stempel) gebracht werd en van hieruit in bloemsteel en takken drong, terwijl ERWIN SMITH bewees, dat in de natuur de waterporen de gewone plaats van infectie zijn voor *Pseudomonas campestris*, de oorzaak van de ziekte in de kool, welke ook bij ons te lande zooveel schade heeft veroorzaakt. Voor de andere bakteriële ziekten is nog niet nauwkeurig uitgemaakt, op welke wijze in de natuur de infectie plaats vindt. Wèl toonde ERWIN SMITH aan, dat voor de Solaneën-ziekte, de verwelkingsziekte der Cucurbitaceën en de zooeven genoemde koolziekte de insecten als besmetters kunnen optreden en bij het aanvreten der planten te gelijktijd de parasieten in het plantenweefsel kunnen brengen. Zijn de mikroben eenmaal in een verwond gedeelte terecht gekomen, dan kunnen zij, indien zij parasieten zijn, verder gaan. De zure reactie van de plantensappen vormt voor hen in het geheel geen bezwaar; bij vele plantendeelen is de aciditeit zeer gering en vele bakteriën eischen in het geheel geen

¹⁾ Met zekerheid is tot nog toe bij geen bakteriële ziekte geconstateerd, dat de parasieten door de huidmondjes in de plant kwamen. Bij de seringenziekte is het echter waarschijnlijk. A priori onmogelijk is het zeker niet, dat zij zich in de intercellulaire ruimten zouden vermenigvuldigen, zij het ook langzaam, en hierbij genoegzaam toxine produceeren om eenige aangrenzende cellen te doden. Zijn zij eenmaal zoover, dan is er natuurlijk gelegenheid, het verwoestingswerk voort te zetten.

alcalisch reageerenden voedingsbodem, sommige (*B. amylovorus* b.v.) verkiezen zelfs een zwak-zuren boven een neutralen, en meest alle bezitten de eigenschap uit eiwitten alcaliën (aminen, ammoniak) te vormen, die de aciditeit opheffen of althans verminderen.

Wij zien dan ook dikwijls parasitische bakteriën, waar zij in een zuur weefsel (bladparenchym b.v.) worden gebracht aanvankelijk slechts langzame vorderingen maken ¹⁾, maar weldra wordt de groei-intensiteit grooter en gaat het verwoestingsproces sneller voort: de geproduceerde alcaliën hebben de omgeving voor hen geschikter gemaakt. Hadden wij met saprophyten te doen gehad, dan zou inderdaad hun groei beperkt zijn gebleven tot het verwonde deel. De plant had een kurkhuid kunnen vormen en daarmee haar gezond weefsel als met een ondoordringbaren wal omgeven; maar zelfs zonder dit zouden de saprophyten den inhoud der levende cellen niet hebben kunnen aantasten, voor hen zou inderdaad de cellulosewand een onoverkomelijk beletsel zijn geweest. Met de parasieten ²⁾

¹⁾ Zie de infectieproeven van WAKKER en ERWIN SMITH met *Ps. Hyacinthi* en die van laatstgenoemden onderzoeker met *Ps. Campestris*.

²⁾ Van de parasitische fungi, wier werkzaamheid beter bestudeerd is, kunnen wij zeggen, dat zich twee gevallen voordoen: òf de fungus doodt de cellen en voedt zich daarna met hun inhoud (b.v. alle *Botrytis*-soorten. *Monilia cinerea*, *Peronospora*-soorten), de groei kan dan intercellulair of intracellulair plaats vinden; òf de parasiet voedt zich met de bestanddeelen der levende cel, maar moet dan natuurlijk met zijn hyphen den celwand doorboren (b.v. *Aecidium*-soorten, vele *Erysipheën*); in dit laatste geval vindt niet zelden een hypertrophische ontwikkeling van het aangetaste weefsel plaats. Bij de parasitische bakteriën schijnt alleen het eerste geval voor te

staat het echter anders, want zij bezitten het vermogen de levende plantencel te dooden; de cellen, die een kurkhuid hadden moeten vormen, worden gedood, vóórdat zij dit tot stand kunnen brengen en uit de afgestorven protoplasten diffundeert de inhoud, die den bakteriën verder tot voedsel verstrekt, hun vermeerdering mogelijk maakt en hen in staat stelt hun vernielingswerk voort te zetten. Zoo althans is de gang van zaken, wanneer de parasiet zijn doel bereikt en overwinnaar is in zijn strijd met den hospes. Anders is het, als zijn gastheer hem is vóór geweest en een voldoende kurkhuid heeft kunnen vormen vóórdat de bakteriën de desbetreffende cellen gedood hebben, of wanneer inderdaad de inhoud van het plantenweefsel ongeschikt was als voedsel voor den parasiet (b.v. door het bezit van antiseptisch-werkende stoffen), of ook wanneer de plant kon resisteeren tegen de doodende stoffen, die de mikroben secerneeren. ¹⁾

komen; in alle geval is nog nooit met nauwkeurigheid geconstateerd, dat mikroben in de levende plantencel drongen. Wel vindt men hier en daar vermeld (b.v. door PRILLIEUX en DELACROIX bij hun onderzoek over het stengelgangreen), dat de bakteriën zich in de cellen bevonden, maar waar dit slechts terloops wordt gezegd en de auteurs zich blijkbaar geen reenschap gegeven hebben, dat een dergelijk optreden der parasieten iets ongewoons zou zijn, is men geneigd te vermoeden, dat het feit niet met zekerheid is geconstateerd, te meer omdat het soms moeilijk is uit te maken, of de mikroben zich in de cel of buiten tegen den wand aan bevinden.

¹⁾ Door welke middelen de parasitische bakteriën de plantencellen dooden, is slechts in enkele gevallen nagegaan. Daar waar dit is geschied, bleek het, dat zij een doodende stof produceeren, hetzij een toxine (zoaals ik bij *Bacillus omnivorus*, *B. vulgatus* en *B. subtilis* kon aantoonen) hetzij een product van anderen aard (POTTER meent dat *Ps. destructans*, de oorzaak der raaprotting, oxaalzuur voortbrengt en hiermee de plant doodt).

Deze factoren en nog vele andere zijn het, die den uitslag bepalen van den aanval van parasiet op hospes. Wij kunnen ze brengen tot twee groepen. De eene groep omvat de omstandigheden, die van invloed zijn op de constitutie van de plant en dus haar vatbaarheid bepalen, derhalve indirect werkzaam zijn; de andere omvat alle omstandigheden, die rechtstreeks hun invloed uitoefenen en als uitwendige condities kunnen samengevat worden. Overal waar een parasiet met zijn hospes in aanraking komt, gaan deze invloeden een rol spelen; zij zijn de oorzaak, dat een ziekte het eene jaar sterk optreedt, het andere jaar zich niet vertoont, en op het eene veld verwoestingen aanricht, terwijl een ander volkomen gespaard blijft. Zij spelen een rol bij de beschadigingen, die insecten te weeg brengen, bij de ziekten door zwammen veroorzaakt, maar vooral bij de bacterieele ziekten. Want het komt mij voor dat bij de laatstgenoemde die rol een bijzondere groote is. Het verschil in vatbaarheid van verschillende plantenvariëteiten, die verschillen in heftigheid, waarmee de ziekten op naburige velden en in opeenvolgende jaren optreedt, zijn, naar het mij voorkomt, bij bacterieele ziekten al bijzonder groot.

Over de uitwendige condities wil ik slechts enkele woorden zeggen en slechts wijzen op twee zeer belangrijke, n.l. de temperatuur en de vochtigheidstoestand van de omgeving. Van verreweg het grootste aantal bacteriën ligt het optimum omstreeks 30°; beneden 25° vindt een snelle vermindering der groei-intensiteit plaats. Bij vele van onze cultuur-

gewassen ligt het optimum van groei zeker lager. Een hooge temperatuur is dus in het voordeel der bakteriën en zoo zien wij dan ook vele rottingsziekten bij hooge temperatuur sneller verlopen (zie b. v. de infectieproeven met de beide *Iris*-parasieten *Ps. Iridis* en *B. omnivorus* in Hoofdstuk II van het Tweede Gedeelte); bij een lagere temperatuur kan het de plant dan soms nog gelukken een kurkhuid te vormen, voordat de parasiet de cellen, die hiervoor aangewezen zijn, gedood heeft. Het zou echter ook mogelijk zijn, dat een andere verklaring van dit feit de ware was, n.l. deze, dat de hoogere temperatuur dichter bij het optimum ¹⁾ der toxinewerking lag en daardoor de werkzaamheid van den parasiet bevorderde. Een vochtige omgeving is den bakteriën steeds gunstig; ook dit blijkt bij de rottingsziekten (b.v. bij de zwartbeenigheid der aardappelplanten, die zich op vochtige landen meer vertoont dan op droge) ²⁾. Aan den anderen kant zou het ook niet onwaarschijnlijk zijn, dat droge tijden, waarin veel opgewaaid stof op de planten terecht komt, gunstig zijn voor het tot stand komen van die bacterieele ziekten, bij welke de besmetting door luchtinfectie plaats vindt (geelziek, zwartvervigheid der kool).

Over de omstandigheden, die de vatbaarheid der

¹⁾ Zie ook Hoofdstuk I en II van het Tweede Gedeelte, waar de toxinen van *B. subtilis* en van *B. omnivorus* besproken zijn.

²⁾ Ook de seringenziekte schijnt op vochtige plaatsen gemakkelijker tot stand te komen; misschien moet ook het totaal ontbreken dezer ziekte in 1901 aan de droogte van dien zomer toegeschreven worden.

planten bepalen, is nog zeer weinig bekend. Wat de erfelijke eigenschappen aangaat, heeft men zich tot nu toe tevreden gesteld met te constateeren, dat de verschillende variëteiten vaak een zeer verschillende vatbaarheid vertoonen (bij het geelziek der hyacinthen b.v. is dit zeer opvallend). Maar ook over den invloed der culturomstandigheden zijn slechts weinig waarnemingen of proeven gedaan. Enkele van deze hebben echter duidelijk aangetoond, dat de aard der voeding een groote rol kan spelen. Bij LAURENT's proeven ¹⁾ bleek, dat een sterke kalk-zoowel als een sterke stikstofbemesting de aardappels zeer gevoelig kan maken voor rottingen, teweeggebracht door virulente bakteriën, en dat een phosphorbemesting de tegenovergestelde werking kan hebben, terwijl SORAUER hetzelfde bewees voor de bieten, ten opzichte van de bakterieele gummosis ²⁾.

Waarop nu feitelijk dit verschil in vatbaarheid berust, hetzij dat het als verworven dan wel als erfelijke eigenschap aanwezig is, is nog geheel onbekend. Wel kon LAURENT aantonen, dat een kunstmatige versterking der zure reactie van het aardappelweefsel de rotting kan beletten, terwijl het hem omgekeerd gelukte zeer resistente variëteiten voor rotting vatbaar te maken door de knollen twee uur lang in een oplossing van 2 ‰ kaliloog te laten liggen, maar dat toch niet het geheele vraagstuk der vatbaarheid neerkomt op de meerdere of mindere

(1) Annales de l'Institut PASTEUR 1898.

(2) Z. f. Pflkr. VII (1897) bl 77.

aciditeit van het plantenweefsel, bleek hem reeds uit het feit, dat het sap van sommige zeer vatbare aardappelsoorten een sterker-zure reactie vertoonde dan dat van minder gevoelige.

Zoo zijn allengs door verschillende onderzoekingen alle bezwaren opgeheven, die vroeger tegen de aanname van bakteriën als plantenparasieten zijn te berde gebracht en is het van een wel is waar nog gering aantal ziekten bewezen, dat zij door bakteriën veroorzaakt worden.

Welke eischen gesteld moeten worden aan het onderzoek, dat dit bewijs wil leveren, heeft ERWIN SMITH eenige jaren geleden ¹⁾ duidelijk uiteengezet. De volgende punten dienen n.l. vastgesteld te worden:

1°. dat de suspecte bacterie steeds in de zieke weefsels voorkomt;

2°. dat infecties met reïnculturen de karakteristieke ziektesymptomen doen ontstaan;

3°. dat uit de zieke weefsels der geïnfecteerde planten dezelfde bacterie weer geïsoleerd kan worden.

Eerst wanneer deze drie kwesties met zekerheid zijn uitgemaakt, mag men besluiten, dat de ziekte een bacterieele is en de geïsoleerde bacterie de parasiet.

Hoe eenvoudig of het nu ook schijnen mag te controleeren of een onderzoek aan die eischen voldoet, bij het nagaan der publicaties over de ziekten, die worden opgegeven als bacterieele, ben ik toch,

(1) The bacterial diseases of plants. American Naturalist 1896, bl. 635.

bij het trekken van mijn conclusie, somtijds van dit schema afgeweken. Waar b.v. de beschrijvingen der infectieproeven zoo beknopt zijn, dat het onmogelijk is na te gaan, of deze werkelijk met zorg genomen zijn, daar kunnen die proeven niet overtuigen, en zoo is het dan ook somtijds reeds uitgekomen, dat onderzoekingen, waarbij inderdaad bovengenoemde punten in acht schenen genomen te zijn, toch onnauwkeurig waren en de onderzochte bacterie niet de oorzaak was van de ziekte. VAN TIEGHEM's proeven met *Bacillus amylobacter* zijn hier een voorbeeld van. *Bacillus amylobacter* (= *Clostridium butyricum*) is evenmin een plantenparasiet als eenig andere obligaat anaërobe bacteriesoort; deze kunnen nooit de oorzaak van een plantenziekte zijn. De cellen van een gezonde plant leiden alle een streng aëroob leven in een overvloed van zuurstof, anaërobiose is hun slechts gedurende zeer korten tijd mogelijk ¹⁾ en waar dus de condities voor hun normale leven vervuld zijn, d. i. waar voldoende luchttoetreding is, daar kunnen obligaat anaëroben niet tieren ²⁾. Dompelt men daarentegen een landplant, een aardappel b.v., geheel of gedeeltelijk onder water, dan verandert de toestand: de intercellulaire ruimten vullen zich

¹⁾ De uitzonderingen op dezen regel (zie PFEFFER Pflanzenphysiologie I (1897) § 99) zijn van te weinig beteekenis, dan dat zij hier besproken behoeven te worden.

²⁾ Toch wordt nog telkens, zelfs in onlangs verschenen publicaties, *Clostridium butyricum* vermeld als oorzaak van de aardappelrotting, terwijl daarentegen toch niemand de bacteriën, die bij het z.g. „wortelrot” (rotting der wortels tengevolge van zuurstofgebrek in den grond) optreden, als oorzaak van deze kwaal zal beschouwen.

met water, het plantenweefsel verstikt, een weelderige vegetatie van saprophytische mikroben treedt op, onder welke spoedig het boterzuurferment een hoofdrol vervult. WEHMER mocht dan ook zeker concludeeren, dat de bakteriën, die hij waarnam bij zijn onderzoek ¹⁾ over deze anaërobe rotting, geen parasieten waren, maar niet, dat dus ook geen andere soorten in staat zouden zijn als primaire oorzaak van aardappelrotting op te treden ²⁾.

Aan den anderen kant zou het ook mogelijk zijn, dat een onderzoek, dat niet aan bovengenoemde eischen voldeed, toch op overtuigende wijze aantoonde, dat een waargenomen ziekte een bacterieele was, evenals zoovele fungi door hun geheele wijze van optreden duidelijk toonen, parasieten te zijn en ook algemeen als zoodanig worden beschouwd, zonder dat infectieproeven dit streng genomen bewezen hebben. ³⁾

Deze zijn de overwegingen, die mij geleid hebben bij het beoordeelen, welke der beschreven ziekten werkelijk als bacterieel beschouwd moeten worden en welke nog op de lijst der onvolledig bekende moesten blijven staan.

¹⁾ Centr. f. Bakt. 2e Abth. IV bl. 540.

²⁾ l.c. bl. 738.

³⁾ Als een voorbeeld van een dergelijken fungus zou ik Plasmodiophora Brassicae willen noemen, van welke wel niemand betwijfelen zal, dat zij de oorzaak der „knolvoeten” is.

HOOFDSTUK II.

Overzicht der plantenziekten, wier bakterieele aard is bewezen.

A. Vaatziekten. (De bakteriën bevinden zich aanvankelijk uitsluitend in de vaatbundels en verspreiden zich langs deze.)

§ 1. Zwartnervigheid der kool en aanverwante Cruciferen, veroorzaakt door *Pseudomonas campestris* (PAMMEL) SMITH.

Deze bakterieele ziekte komt zeer algemeen voor bij de kool en werd enkele malen waargenomen aan koolraap en witte turnip (*Brassica Napus rapifera*) en aan Engelsch turnip (*Brassica Rapa rapifera*).

De verschijnselen zijn het duidelijkst waar te nemen aan Savoyekool, vooral aan de witte. Bij ons te lande treden zij het eerst voor den dag in de maanden Juli en Augustus. De onderste bladeren krijgen dan gele vlekken, die meestal aan den rand beginnen en zich langzaam verder over het blad uitstrekken; de kleur der zieke plekken wordt allengs meer een bruine en de consistentie dier deelen wordt min of meer taai en perkamentachtig; bij nauwkeurige beschouwing is een zwartkleuring der nerven waar te nemen, die bij dwarsdoorsnede van blad of bladsteel

duidelijker zichtbaar is. De stam gaat weldra in de onmiddellijke omgeving van de aanhechting der zieke bladsteel ook een zwartkleuring van het houtgedeelte vertoonen. Het aangetaste blad valt spoedig af en gedurende eenigen tijd is aan de plant weinig abnormaals te zien, maar spoedig beginnen ook de hooger gezeten bladeren ziektesymptomen, echter van anderen aard dan de bovengenoemde, te vertoonen: de randen worden bruin en verdrogen, het geheele blad krijgt een gele, soms een goudgele kleur en valt weldra af. Deze verschijnselen vertoonen zich eerst aan de onderste bladeren, weldra echter ook aan de hooger gelegen en één voor één sterven een groot aantal bladeren en vallen af. Dit afstervingsproces gaat tot aan den kop toe voort en tast eindelijk ook de kopbladeren aan; door hun compacte ligging is afvallen hier echter niet mogelijk, wel laten de zieke bladeren gemakkelijk los van hun aanhechtingsplaats, wat den koolen vaak een zonderling aanzien geeft. ¹⁾ Dikwijls beginnen hier bovendien rottingsverschijnselen op te treden. Intusschen heeft de zwartkleuring van het houtgedeelte van den stam voortgang gemaakt; over een groote afstand heeft zich die verkleuring uitgebreid, soms vooral in lengterichting, en slechts op een bepaalden sector van den houtring, somtijds zich over het geheele houtgedeelte uitstrekkend; bij de Savoyekool is het merg van dergelijke stammen

¹⁾ Zie de fotografie, gevoegd bij het stukje over deze ziekte in het Tijdschrift over Plantenziekten VI.

zeer onderhevig aan rotting, somtijds zijn geheele holten uitgevreten door een soort „droog rot”.

De eerste berichten over deze ziekte kwamen uit Amerika. Culturen van Rutabaga of witte turnip (*Brassica Napus rapifera*) en Engelsche turnip (*B. Rapa rapifera*) hadden ernstig geleden ¹⁾, doch veel grooter schade was teweeggebracht aan de koolvelden. ²⁾ Reeds in 1890 moet zich hierin de ziekte vertoond hebben, aanvankelijk echter in geringe mate, maar allengs in heftigheid en uitbreiding toenemend, zoodat in 1896 de schade zeer aanzienlijk was en deze alleen voor Wisconsin op 50 à 60 duizend dollar geschat werd ³⁾. Omstreeks dien tijd schijnt zij ook reeds in Europa waargenomen te zijn, althans de landbouwers aan den Langendijk herinneren zich de kwaal toen voor het eerst opgemerkt te hebben, en eenige jaren later (in 1898) was Harding ⁴⁾ op een reis door Europa in de gelegenheid haar aanwezigheid te constateeren op zeer vele ver uiteen gelegen plaatsen (o. a. te Kiel, Berlijn, Bern, Versailles, Haarlem). In den laatsten tijd is in het Noord-Hollandsche kooldistrict (Langendijk en omstreken) de kwaal van jaar op jaar toegenomen en in 1900 waren aldaar de verwoestingen buitengewoon groot, zoodat op sommige velden 9/10 van de uitgeplante koolen te gronde gingen en de schade naar

1) PAMMEL. Bacteriosis of Rutabaga (Jowa Exp. Sta. Bull. 27. 1895).

) GARMAN. Bacterial disease of cabbage (Ky. Exp. Sta. Rep. 43. 1890).
 RUSSEL and HARDING. A bacterial rot of cabbage and allied plants (Wisconsin Exp. Sta. Bull. 65. 1898).

³⁾ Russell and Harding l. c. bl. 5.

⁴⁾ Centr. f. Bakt. 2e Abth. VI 1900.

schatting zelfs eenige honderdduizenden guldens bedroeg ¹⁾).

De zwartgekleurde nerven der bladeren en de zwarte gedeelten van het houtlichaam van den stam zijn opgevuld met bakteriën, die nagenoeg alle tot éénzelfde soort behooren. Aanvankelijk zijn de parasieten beperkt tot de groote houtvaten en in een blad of stengel, waar zij eerst sedert kort zijn binnengedrongen is het parenchym in de onmiddellijke omgeving der houtvaten nog levend en gezond; spoedig echter beginnen deze parenchymcellen af te sterven en de zieke bladeren gaan dan gele vlekken vertoonen, die zich allengs uitbreiden om de plaats van infectie heen. Ook in den bladsteel vindt dat afsterven van het vasaal-parenchym plaats; het doode weefsel verschrompelt, kleine holten ontstaan en somtijds komen de vaten min of meer geïsoleerd te liggen; dergelijke processen vinden ook in den stengel plaats, waar de vertering vooral het merg kan aantasten.

Het afsterven, geel worden en afvallen der bladeren is een gevolg van voedselgebrek (de houtvaten zijn door de bakteriën verstopt), maar bovendien zullen de doodende stoffen, die de bakteriën produceeren en die met het voedsel naar de bladeren vervoerd worden, deze vergiftigd hebben.

Het isoleeren van den parasiet is bij deze ziekte zeer gemakkelijk: de aangetaste deelen bevatten

¹⁾ Zie mijn mededeelingen hierover in het Tijdschrift over Plantenziekten VI 1900.

hem nagenoeg alleen, zonder andere secundaire indringers. Reinculturen zijn dus gemakkelijk te verkrijgen van deze beweeglijke, niet sporenvormende soort, die den naam *Pseudomonas campestris* ontving ¹⁾ en waarvan de infectieproeven bewezen, dat zij werkelijk de oorzaak der ziekte was. Deze proeven werden voornamelijk door ERWIN SMITH ²⁾ en RUSSELL en HARDING ³⁾ genomen en toonden aan, dat de ziekte op verschillende soorten Cruciferen kon overgebracht worden, maar dat van deze de kool verreweg de grootste vatbaarheid had. Het is voldoende om eenig bakteriën materiaal in een bladnerf of in het hout van den stengel te brengen om na eenigen tijd de karakteristieke ziektesymptomen te doen ontstaan. Na een dag of vijftien vertoonen de houtvaten in de omgeving der infectieplaats reeds de zwarte verkleuring, maar vóórdat de bakteriën door den bladsteel in den stam gedrongen zijn, verloopen meerdere weken en eerst na een paar maanden begint het afvallen der bladeren. Natuurlijk is het van invloed op het verloop der ziekte, op welken leeftijd de plant geïnfecteerd wordt; de kunstmatige infecties, door de genoemde Amerikaansche onderzoekers verricht, vonden plaats aan jonge

¹⁾ PAMMEL was de eerste, die de ziekte waarnam en wel aan witte turnip of Rutabaga. De Amerikaansche onderzoeker meende, dat de naam van deze plant *Brassica campestris* was en noemde daarnaar den parasiet *Bacillus campestris*. Dit was echter een vergissing: *B. Campestris* is het avelzaad, de Rutabaga is een variëteit van *B. Napus*.

²⁾ Centr. Bakt. 2e Abth. III 1897.

³⁾ Wisconsin Agr. Exp. Sta. Bull. 65, 1898.

koolplantjes, die een grootte van ongeveer 20 cM. bereikt hadden ¹⁾; ook in de natuur vindt de besmetting gewoonlijk op jeugdigen leeftijd plaats. Terwijl een nerf-infectie van een koolblad bijna zonder uitzondering de ziekte doet ontstaan, geven infecties van het bladparenchym veel minder zekere resultaten en blijven zeer vaak zonder gevolg, waarschijnlijk ten gevolge der zure reactie van dit weefsel. De vraag was nu op welke wijze in de natuur de bacteriën in de houtvaten terecht kunnen komen. ERWIN SMITH ²⁾ meende, dat dit op twee wijzen zou kunnen geschieden: 10. door dieren, die aan bladeren of stam vreten, 20. door middel van de waterporen. Zijn proeven bewezen, dat inderdaad langs deze beide wegen infectie kon plaats vinden, terwijl van den anderen kant scheen, dat dit door de stomata niet licht geschieden kan.

De volgende Cruciferen bleken kunstmatig besmet te kunnen worden: alle onderzochte Brassica-soorten n.l. kool (*B. oleracea*), koolraap en Rutabaga (*B. Napus rapifera*), turnip (*B. Rapa rapifera*) mosterdzaad (*B. nigra*) en verder radijs (*Raphanus sativus*) en herik (*Sinapis arvensis*).

Op het veld schijnt de infectie ook vooral aan de jonge planten plaats te vinden, hetzij reeds vóór de uitpoting (dus aan planten, die hoogstens twee maanden oud zijn) of na dien tijd. Uit de kunstmatige infecties bleek, dat steeds geruimen tijd (op

¹⁾ Zie o. a. HARDING: Die Schwarze Fäulniss des Kohles (Centr. f. Bakt. 2e Abth. VI 1900 bl. 310).

²⁾ Centr. f. Bakt. III 1897 bl. 409.

zijn minst drie maanden) verloopt, voordat de zwartkleuring van het hout van den stam en het afvallen der bladeren plaats vindt. Bij ons te lande worden deze symptomen gewoonlijk in Augustus, September of October waargenomen; in die gevallen heeft de besmetting dus op zijn laatst in Juli plaats gevonden. Wel was ik in de herfst van 1901 nog in de gelegenheid op te merken, dat toch ook nog later infecties moesten geschied zijn, aangezien ook toen nog bladeren aanwezig waren, die blijkens de eigenaardige gele vlekken aan den rand en het bezit van slechts enkele zwartgekleurde nerfjes, eerst kortelings besmet waren geworden.

Aanvankelijk had de roode kool het meest te lijden, minder de Savoye en het allerm minst de bloemkool. In de laatste jaren worden echter alle soorten in zoo sterke mate aangetast, dat een verschil in vatbaarheid nauwelijks te bespeuren is.

ERWIN SMITH gaf van den parasiet een beschrijving ¹⁾; karakteristiek is het gele pigment, dat op verschillende voedingsbodems geproduceerd wordt. Nauw verwant met *Ps. Campestris* schijnen *Ps. Hyacinthi*, *Ps. Phaseoli* en *Ps. Stewarti* te zijn ²⁾.

§ 2. Ziekte der Solaneën, veroorzaakt door *Bacillus Solanacearum* ERW. SMITH.

In Amerika is sedert lang een ziekte van verschil-

¹⁾ Centr. f. Bakt. III 1897.

²⁾ ERWIN SMITH. The Cultural Characters etc. (U. S. Dep. of Agr. Div. Veg. Phys. and Path. Bull. 28. 1901).

lende Solaneën bekend, die zich uit door het verwelken van bladeren en stengels. Het eerst waargenomen aan tomaten door HALSTED ¹⁾ en BAILEY en CORBETT ²⁾, van welke de eerstgenoemde met succes infectieproeven had genomen, is toch eerst door ERWIN SMITH ³⁾ de ziekte volledig bestudeerd.

Voor al de tomatenplanten hebben van deze ziekte te lijden. Het eerste duidelijke ziektesymptoom is hier een plotseling verwelken van de bladeren, wat gewoonlijk eerst aan een enkelen tak optreedt, maar zich weldra uitbreidt over de geheele plant. Bij jonge planten volgt hierop een algeheele verschrompeling van den stengel, die eerst een gele tint aanneemt, daarna bruin of zwart wordt, terwijl het merg, soms ook het schorsweefsel, wegtrot en eindelijk in een slijmerige stinkende massa overgaat; oudere stengels behouden door het sterkere houtgedeelte langer hun krachtig voorkomen. Voordat de stengels beginnen te verschrompelen, is echter reeds een zeer karakteristiek ziektesymptoom opgetreden, n.l. zwartkleuring der nerven; aanvankelijk alleen op doorsnee zichtbaar, wordt deze kleuring later zoo intens, dat zij reeds van buitenaf te zien is en de nerven als zwarte strepen door de schors heen schijnen. Maar niet alleen de bovenaardsche deelen worden aangetast, ook naar omlaag breidt zich de

¹⁾ Garden and Forest V bl. 379 en Mississippi Sta. Bull. No. 19. 1892 (E. S. R. III bl. 702).

²⁾ Cornell Univ. Agr. Exp. Sta. Bull. 45, 1892.

³⁾ U. S. Dep. of Agr. Div. of Veg. Phys. and Path. Bull. No. 12, 1896 (E. S. R. VIII bl. 1895).

ziekte uit en de wortels en de onderaardsche stengel-deelen vertoonen weldra de zwartkleuring der nerven. De ziektesymptomen zijn bij de overige Solaneën dezelfde als die bij de Tomaat. Bij den aardappel zijn ook de knollen zeer vatbaar voor de ziekte: als de parasieten in de stolonen gedrongen zijn en hun tegenwoordigheid zich hier kenbaar gemaakt heeft door de zwarte kleur der nerven, dringen zij weldra verder en tasten de knollen aan, die spoedig tot rotting overgaan. In Amerika werd deze ziekte waargenomen bij de tomaten, den aardappel en de eierplant (*Solanum melongena*).

In de eerste stadiën, wanneer nog slechts een deel der plant is aangetast en aan het verwelken is, zijn in de houtvaten de parasitische bakteriën reeds in groot aantal te vinden en laten zich dan gemakkelijk isoleeren en in reïncultuur brengen; later, als de parasieten ook in merg en schors gedrongen zijn en de stengel reeds aan het rotten is, hebben vele andere, saprophyten, zich bij hen gevoegd.

De infectieproeven van ERWIN SMITH hebben aangetoond dat de bakteriën, die reeds bij het eerste ziektestadium in de houtvaten gevonden worden, inderdaad de oorzaak der kwaal zijn. Door materiaal van reïnculturen te brengen in blad- of stengelweefsel gelukte het bij gezonde planten van tomaat, aardappel of eierplant de karakteristieke ziektesymptomen te voorschijn te roepen. Bovendien bleken nog andere Solaneën vatbaar te zijn. *Datura Stramonium*, *Solanum nigrum*, *Physalis crassifolia* en *P. philadelphica*, en, ofschoon in mindere mate, ook

een *Petunia*-soort. Onvatbaar schenen: *Nicotiana tabacum*, *Capsicum annuum*, *Solanum muricatum* en *Solanum carolinense*. Ook bij *Pyrus communis*, *Pelargonium zonale* en *Cucumis sativus* blevende infecties zonder resultaat. Hoe in de natuur de infectie plaats vindt, is nog niet uitgemaakt; wel toonde ERWIN SMITH aan, dat colorado-kevers, die eerst aan zieke aardappelplanten en daarna aan gezonde planten gevreten hadden, de ziekte op deze hadden overgebracht en hij maakte het aldus waarschijnlijk, dat ook in de natuur de insecten bij de infectie en de verbreiding der ziekte een rol spelen, maar zekerheid dienaangaande is nog niet verkregen en het blijft dus mogelijk, dat de bacteriën ook zonder meewerking der insecten in de planten kunnen dringen.

De schade, die deze ziekte in Amerika aan de tomaten- en aardappelvelden veroorzaakte, was in sommige streken zeer aanzienlijk. In Europa is zij nog niet geconstateerd, al is het waarschijnlijk, dat de door DELACROIX vermelde aardappelziekte ¹⁾ en de door SORAUER beschreven „schwarze Trockenfäule” ²⁾ identiek ermee zijn.

De bacterie zelf werd eveneens door ERWIN SMITH ³⁾ vrij uitvoerig beschreven. Karakteristiek is o.a. de vorming van een bruin pigment in suikerhoudende vloeistoffen en voedingsbodems.

¹⁾ C. R. 133, 1901, bl. 417.

²⁾ Z. f. Pflkr. IV 1894 bl. 126.

³⁾ l. c. bl. 10.

§ 3. Verwelkingsziekte («Wilt-disease») der Cucurbitaceën, veroorzaakt door *Bacillus tracheiphillus* ERW. SMITH.)

De algemeene symptomen zijn die van planten, welke tengevolge van gebrek aan water snel te gronde gaan; rottingsverschijnselen treden hier niet bij op.

Aanvankelijk bevinden zich de bacteriën alleen in de houtvaten; later dringen zij ook door in het omgevende parenchym, dat zij te gronde richten, zoodat hierin groote holten ontstaan, die met bacteriën gevuld zijn ¹⁾. Op doorsnee van een aange-tasten stengel treden uit de zieke vaatbundels dikke droppels van een melkwit vocht, dat wemelt van bacteriën.

In Amerika is de ziekte, die bij eenige Cucurbitaceën (augurken, meloenen, komkommers) voorkomt, wèlbekend. HALSTED deed in 1892 ²⁾ reeds mededeelingen daaromtrent; het was hem toen reeds gebleken, dat bacteriën de oorzaak ervan waren, doch hij verkeerde nog in de meening, dat deze ziekte dezelfde was, als de bij Solaneën voorkomende verwelkingsziekte.

¹⁾ Zie de microphotografiën van ERW. SMITH. (Bacteriol. Centralbl. 2e Abth. VII. „Entgegnung“).

²⁾ Mississippi Station. Bull 19 (E. S. R. III bl. 702)

³⁾ Centr. f. Bakt. 2e. Abth. I bl. 364.

De nauwkeurige infectieproeven van ERWIN SMITH toonden echter, dat dit twee verschillende ziekten waren en tevens met zekerheid, dat de uit de vaten der zieke augurk-planten geïsoleerde bacterie, *Bacillus tracheiphilus*, werkelijk de oorzaak der Cucurbitaceënkwaal was.

Vatbaar voor de ziekte bleken tot nu toe alleen de volgende Cucurbitaceën: augurk, komkommer, meloen.

De infecties vonden plaats door middel van kleine wonden, met de entnaald in het blad gemaakt, ook door insecten (*Diabrotica vittata* en *Coreus tristis*).

§ 4. Het Geel- of Nieuwziek der Hyacinthen, veroorzaakt door *Pseudomonas Hyacinthi* (WAKKER) SMITH.

Op het veld doet het geelziek zich op tweeërlei wijze voor:

1°. een aantal planten blijven klein, de bladeren gaan spoedig slap hangen en sterven vroegtijdig af onder het aannemen van een gele kleur; van de bloemvorming komt soms niets terecht. Reeds bij het uitloopen doen zich vaak abnormale verschijnselen voor: de bladeren krommen zich n.l. vaak alle naar ééne zijde; dit is de kant, waar zich de aangetaste schubben bevinden, hier is de bladgroei gestoord, terwijl zij aan de andere zijde normaal voortgaat; het gevolg is een kromming der bladeren. Bij doorsnijding blijkt de bol van dergelijke planten in het centrum sterk door het

geelziek te zijn aangetast; de bladvoeten en een deel der tweejarige schubben zijn opgevuld met een geel slijm, dat zich in dikke droppels laat uitpersen. De planten, waarbij zich de ziekte op deze wijze voordoet, zijn reeds het vorige jaar geïnfecteerd.

2°. In het eerste jaar van infectie doen zich andere symptomen voor. De normaal ontwikkelde planten bloeien goed, maar tijdens of na den bloei (zelden reeds vóór dezen tijd) gewoonlijk in de maand Mei vertoonen enkele der bladeren een bruine of gele streep, die even onder den top begint te verschijnen en zich van hieruit verder naar omlaag uitstrekt; zij neemt daarbij in breedte toe, terwijl de bruine kleur overgaat in een helder doorzichtige tint. Soms schijnt het alsof de zieke streep even boven den bladvoet eindigt; houdt men echter het blad tegen het licht, dan is gewoonlijk als vervolg een helgele streep te bespeuren, die door het groene bladweefsel heenschijnt en tot onder aan den bladvoet voortgaat; bij dwarsdoorsnee springt de zieke nerf als een helgele stip dan ook dadelijk in het oog. Soms blijkt het echter, dat de bladbasis werkelijk volkomen gezond is gebleven en de ziekte dus aan het benedeneinde van het blad gestuit is.

Reeds op het veld worden de planten telkens geïnspecteerd door de kweekers, teneinde de exemplaren, die door het geelziek zijn aangetast, te verwijderen en te vernietigen en bovendien worden de bollen, zoodra zij gerooid zijn (in Juni of Juli) onderzocht („gevisiteerd”) en vernietigd, indien zij aan

het geelziek blijken te lijden. Met een scherp mes wordt daartoe de top van den bol afgesneden en alle exemplaren, die de gele stippen in hun schubben vertoonen, worden verwijderd. Ondanks dit nauwkeurige onderzoek zijn er toch steeds zieke bollen, die aan de aandacht ontsnappen en dus in het najaar worden uitgeplant. Bij die exemplaren gaat de ziekte gedurende den winter en het volgende voorjaar voort en de plant vertoont dan, als zij boven den grond komt, de ziektesymptomen, die hierboven onder 1° beschreven zijn. Bovendien zijn de door het geelziek aangetaste bollen reeds gedurende den winter zeer onderhevig aan rotting ¹⁾, zoodat somtijds de jonge spruit in het voorjaar niet eens boven den grond komt.

In de bladeren, die de bruine strepen vertoonen, zijn de houtvaten van enkele vaatbundels opgevuld met bakteriën en hetzelfde is het geval met de schubben, die bij dwarsdoorsnee de gele stippen vertoonen. Aanvankelijk beperkt tot het xyleem, dringen zij weldra in het parenchym door, dat de onmiddellijke omgeving van den vaatbundel vormt. In de planten, die uit geelzieke bollen gekweekt worden, d. w. z. in zulke, wier ziekte-symptomen hierboven onder 1° beschreven zijn, is hun verspreiding minder beperkt; dan zijn zij ook vaak in dikke gele klodders in de luchtholten der bladeren te vinden.

In het eerste stadium van de ziekte laat de para-

¹⁾ Zie wat over deze rotting gezegd is in § 15.

Deze rotting is dus niet te verwarren met die, welke *B. Hyacinthi septicus* veroorzaakt en die in ons land niet schijnt voor te komen.

siet zich gemakkelijk isoleeren; wanneer nog slechts sedert kort de bruine streep op het blad is zichtbaar geworden, zijn de aangetaste vaatbundels nagenoeg uitsluitend bewoond door één bakterie-soort (*Pseudomonas Hyacinthi* (Wakker) Smith). Later voegen zich verschillende saprophytische bacteriën bij den parasiet en in het jaar na de infectie zijn deze zoo talrijk geworden, dat zij den *Pseudomonas Hyacinthi* in aantal verre overtreffen, zoo dat deze slechts met moeite nog geïsoleerd kan worden.

Dat *Pseudomonas Hyacinthi* werkelijk de oorzaak is, was reeds ingezien door den eersten onderzoeker, WAKKER ¹⁾, die het geelziek dan ook voor een bacterieele ziekte verklaarde en door welgeslaagde infectieproeven zijn meening kon staven. Doch eerst door ERWIN F. SMITH ²⁾ zijn infectieproeven verricht met reïnculturen der bakterie. Deze proeven zijn volkomen overtuigend; de hyacintenplanten, geïnfecteerd aan blad- of stengeltop, vertoonden allen na een week of vier de karakteristieke ziekte-symptomen; de infecties op uien-, Amaryllis- en koolplanten bleven zonder resultaat.

Hoe in de natuur de besmetting plaats vindt, is nog onvoldoende bekend. ERWIN SMITH ³⁾ meent, dat het door middel van insecten geschiedt, hetzij door zulke, die aan de bladeren vreten of door bloembezoekende

¹⁾ Arch. Néerland. XXIII p. 18.

Botan. Centralbl. XIV.

„Onderzoek der ziekten van Hyacinten enz.” (Haarlem 1883—1885.)

²⁾ U. S. Dep. Agr. Div. Veg. Phys. Path. Bull. 26. 1901.

³⁾ l. c. p. 34.

insecten. Maar deze veronderstelling is zeer onwaarschijnlijk, want de hyacinth behoort tot de zeer weinige planten, die niet in het minst van blad-vretende insecten te lijden hebben en ook de bloem-bezoekende insecten kunnen geen schuld hebben aan de infectie, zooals blijkt uit het feit, dat door den bloeistengel in de natuur nooit infectie plaats vindt; hierover althans zijn al de kweekers het eens en ik zelf heb ook nooit een dergelijk begin der ziekte waargenomen.

WAKKER meent, dat de parasieten door kleine scheurtjes in het blad binnendringen. Misschien ook vindt de infectie door de stomata plaats.

In alle geval begint de ziekte steeds aan den top van het blad en komen de bakteriën alleerst in de houtvaten terecht; zij dringen hierin naar omlaag maar blijven niet beperkt tot het xyleem, ook het omgevende parenchym wordt vernietigd en in beslag genomen. Zoo kunnen zij ten slotte in den bladvoet, die als schub deel zal blijven uitmaken van den bol, terecht komen. Bij vatbare (of z.g. „zachte”) soorten (b.v. La Grandesse, Alida Catharina, Czar Peter, enz.) is dit regel en wanneer het blad bij zulk een soort eenmaal geïnfecteerd is, dan is de bol verloren; doch bij de minder vatbare, de «hardere» soorten (bv. Norma, Bouquet tendre, enz.) komt de ziekte dikwijls tot staan, vóórdát zij den bladvoet bereikt heeft. Het onderste gedeelte van het blad schijnt n.l. het kritieke punt voor de bakteriën te zijn; altijd is hier de voortgang der ziekte een langzame, zelfs bij de zachtere soorten, terwijl bij

de hardere de parasieten niet in staat schijnen te zijn hier verder te dringen en ondanks de infectie van het blad blijft de bol dan gewoonlijk gezond. Zijn de bakteriën echter in den bol gedrongen, dan is deze verloren; òf de bol gaat geheel in rotting over òf de plant loopt het volgend jaar uit onder de reeds beschreven verschijnselen van kromming, klein blijven en spoedige sterfte der bladeren en uitblijven der bloemvorming, terwijl zij inwendig is opgevuld met een geel slijm.

De verschillende variëteiten der hyacinthen vertoonen een zeer verschillende mate van vatbaarheid voor deze ziekte. WAKKER heeft indertijd, afgaande op de meedeelingen van een zevental kweekers een lijst gemaakt, waarin een zeer groot aantal variëteiten werden opgenomen en deze verdeeld in vijf rubrieken van vatbaarheid. Indertijd zal die lijst zeker juist geweest zijn, maar thans, 17 jaar later, is zij dit stellig niet meer; vele variëteiten schijnen n.l. in dien tijd in vatbaarheid te zijn toegenomen: LA GRANDESSE, CZAR PETER, VOLTAIRE staan thans bekend als zeer vatbaar, terwijl zij in 1885 nog tot de z.g. harde soorten gerekend worden. Er schijnt dus bij sommige variëteiten ten opzichte van hun vatbaarheid voor deze ziekte een zekere degeneratie te hebben plaats gevonden.

De bestrijdingsmiddelen beperken zich tot het verwijderen der zieke exemplaren en der bij het visiteeren ziek bevonden bollen.

§ 5 Bakterieele gummosis ¹⁾ van de suikerbiet (*Bacillus Betae* Busse).

De eerste berichten over deze ziekte zijn afkomstig van KRAMER ²⁾ en SORAUER ³⁾, die haar in 1891 en 1892 vermelden als voorkomende in Vucovar (Slavonië). Kort daarop, in 1894, werd zij door SORAUER ook in Duitschland geconstateerd en in de volgende jaren kwamen uit verschillende streken van Duitschland berichten over deze ziekte ⁴⁾, die daar wel niet een groot uitbreidingsgebied schijnt gehad te hebben (zij werd alleen in N. en O. Pruisen ⁵⁾ waargenomen), doch waar zij optrad, vaak groote schade veroorzaakte. En des te ernstiger waren dikwijls de gevolgen, daar het bleek, dat de aangetaste bieten zeer vergiftige eigenschappen bezaten voor het vee; runderen, die ermee gevoederd waren, vertoonden steeds ernstige vergiftigingssymptomen, die soms met den dood eindigden.

De bakteriëele gummosis begint zich gewoonlijk te vertoonen aan den „staart” van de biet, die sterk verschrompelt en daarbij een blauwzwarte kleur aanneemt, welke verschijnselen zich allengs verder

¹⁾ De bezwaren, die FRANK (Kampfbuch. 1897 bl. 145) tegen den door SORAUER gebruikten naam „bakteriose gummosis” heeft gemaakt, schijnen mij van geen belang, wel schijnt mij „bakterieele gummosis” geschikter. Ook de naam „Rübenschwanzfäule” wordt in Duitschland gebruikt.

²⁾ Österr. Landwirthsch. Centralblatt I 1891 bl. 30.

³⁾ Z. f. Pflkr. II 1892 bl. 280.

⁴⁾ Zie Jahresbericht des Sonderausschusses für Pflanzenschutz. 1894, 1895, 1896. 1897.

⁵⁾ Zie echter de meedeelingen aan het slot van deze §.

naar omhoog uitstrekken. Snijdt men een dergelijke zieke biet door, dan blijkt het, dat het geheele parenchym die kleur heeft aangenomen of bij blootstelling aan de lucht gaat aannemen; verder naar boven toe, waar de ziekte nog niet zoo ver voortgeschreden is, zijn het gewoonlijk alleen de houtvaten, die die verkleuring vertoonen, zoodat op de doorsnee bruine of zwarte kringen in het oog vallen. Gewoonlijk vindt ook bij de aangetaste bieten een uitstorting van gom plaats, hetzij dat deze naar buiten treedt en als een lakachtig overtreksel het zieke orgaan gaat bekleeden of dat zij eerst bij doorsnijding uit de zieke vaten te voorschijn treedt. Soms gaan ook gedeelten van het inwendig parenchym in rotting over, zoodat holten ontstaan. De bladeren der zieke planten nemen dikwijls een gele kleur aan, en worden soms kroes of opgeblazen (als bij Savoyekool) en sterven spoedig af. Het gehalte aan rietsuiker is altijd zeer gering, daar een groot gedeelte geïnverteerd is; het quantum reduceerende suiker is dan ook zeer groot. Dit verschijnsel kan als een typisch ziektesymptoom gelden.

In de zieke deelen zijn zelden fungi aanwezig, maar bakteriën komen er steeds in grooten getale voor, ook in de uittredende gomodroppels. Hoe de bakteriën zich door de plant verspreiden is nog niet nauwkeurig nagegaan, het schijnt echter, dat de houtvaten het eerst worden aangetast en dat de mikroben in de eerste plaats hierlangs voortwoekeren¹⁾.

¹⁾ FRANK. Kampfbuch. 1897 bl. 145.

SORAUER was de eerste, die de meening uitsprak, dat de bakteriën de oorzaak van de ziekte waren; door een ruwe infectieproef kon hij ook aantoonen, dat de ziekte in alle geval een zeer besmettelijke was, doch volledige en nauwkeurige infectieproeven met reïnculturen werden eerst door BUSSE ¹⁾ uitgevoerd, zoodat thans met zekerheid uitgemaakt is, dat deze ziekte werkelijk een bacterieele is; bovendien gaf BUSSE een, wel is waar niet zeer volledige, beschrijving van de geïsoleerde bacterie, die zich o.a. kenmerkt als een sterke gasproduceerder en den naam *Bacillus Betae* ontving.

Zoowel voederbieten als suikerbieten hebben van deze kwaal te lijden; of ook nog andere planten vatbaar zijn, is niet uitgemaakt en infectieproeven in deze richting ontbreken nog.

SORAUER ²⁾ heeft nog eenige interessante proeven genomen, om na te gaan of de voeding der planten van invloed is op de vatbaarheid voor deze ziekte. Rijke stikstofbemesting werkt de ziekte in de hand, vooral in droge tijden wanneer de groei tengevolge van watergebrek gering is; bij chilisalpeter was die ongunstige invloed niet zoo groot als bij zwavelzure ammoniak; kalk verhoogt eveneens de vatbaarheid, terwijl phosphor daarentegen den weerstand der planten vergroot.

Behalve uit Duitschland en Oostenrijk ³⁾ is de ziekte een paar jaar geleden ook uit België vermeld ⁴⁾.

¹⁾ Z. f. Pflkr. VII 1897, bl. 65.

²⁾ Z. f. Pflkr. VII 1897, bl. 77.

³⁾ Zie ook Stift (Z. f. Pflkr. X 1900 bl. 5).

⁴⁾ MARCHAL. Rapport maladies crypt. Laborat. Bot. Inst. Agr. Gembloux 1900.

In andere landen is haar optreden nog niet geconstateerd. Wel zijn in Amerika een paar maal ziekten gesignaleerd, die overeenkomst schijnen te hebben met de bacterieele gummosis, maar met zekerheid te zeggen, dat het werkelijk dezelfde kwaal was, schijnt mij niet mogelijk. In 1892 berichtten n.l. ARTUR en GOLDEN ¹⁾ over een ziekte in de suikerbieten, waarbij in alle deelen der plant bakteriën te vinden waren. De ziektesymptomen waren echter niet geheel die van de bacterieele gummosis en infectieproeven hadden ook geen overtuigende resultaten. Later, in 1898, is door CLARA CUNNINGHAM ²⁾ een ziekte der bieten beschreven, die er met meer waarschijnlijkheid mee geïdentificeerd zou kunnen worden.

§ 6. Maïsziekte („corn wilt”) veroorzaakt door *Pseudomonas Stewarti* SMITH ³⁾.

Ik voeg deze ziekte met eenige aarzeling bij diegenen, van welke bewezen is, dat bakteriën de oorzaak zijn. Overtuigende infectieproeven zijn n.l. nog niet verricht, maar het constante optreden van de bovengenoemde bacterie, *Pseudomonas Stewarti*, in de houtvaten en het geheele karakter dezer kwaal, zooals zij door STEWART ⁴⁾ en ERWIN SMITH ⁵⁾ be-

¹⁾ Indiana Sta. Bull. 39. (ref. E. S. R. III bl. 851).

²⁾ Proc. Soc. Prom. Agr. Sci. 1898 bl. 141 (ref. E. S. R. XI bl. 756.)

³⁾ Niet te verwarren hiermee is het z.g. „Corn blight“, ook als bacterieele ziekte beschreven, zie volgende Hoofdstuk.

⁴⁾ New York State Sta. Bull. 180 (ref. E. S. R. IX bl. 1056).

⁵⁾ Proc. Am. Assoc. for Adv. of Sci. 1898, p. 422.

schreven is, wijst er m.i. toch op, dat STEWART gelijk had, toen hij de ziekte als een bacterieele beschouwde.

In sommige streken van Amerika (Michigan, Jowa, New York State) heeft het »corn wilt« groote verwoestingen aangericht onder de maïsvelden, waarvan somtijds 20 à 40 % der planten te gronde gingen. Eerst gaan sommige bladeren verwelken en verdrogen, en somtijds ondergaan binnen korten tijd alle bladeren hetzelfde lot, zoodat de plant kort na de eerste symptomen sterft; niet zelden echter gaat het verloop langzamer of schijnt de plant zelfs aanvankelijk er doorheen te groeien. Op alle stadiën van groei kan de ziekte zich gaan vertoonen, somtijds reeds op zeer jeugdigen leeftijd.

Het meest karakteristieke symptoom treedt echter voor den dag, als men den stengel in de lengte doorsnijdt: de vaatbundels vertoonen zich dan als gele strepen in het witte parenchym, terwijl bij dwarsdoorsnijding spoedig een geelgekleurd slijmerig vocht uit de vaatbundels te voorschijn treedt, dat wemelt van bacteriën. ERWIN SMITH nam waar, dat in zeer jonge planten de ziekte het eerst optreedt in vaatbundels van het blad en achtte het waarschijnlijk, dat de infectie ook hier plaats greep door middel van de waterporen en het verloop dezer ziekte dus volkomen analoog zou zijn aan dat der koolziekte, welke door *Pseudomonas campestris* veroorzaakt wordt.

De bacterie, gemakkelijk herkenbaar aan het gele pigment en blijkbaar nauw verwant aan Pseu-

domonas campestris, Ps. Hyacinthi en Ps. PHASEOLI, is steeds uit de zieke vaatbundels gemakkelijk te isoleren. Zij werd door ERWIN SMITH beschreven ¹⁾.

B. Ziekten van het parenchym, die niet gepaard gaan met rottingsverschijnselen.

§ 7. »Fire-blight« (twig-blight »of »anthrax«) van pereboom, appelboom en eenige andere gewassen, veroorzaakt door *Bacillus amylovorus* (Burrill) de Toni.

Deze ziekte is in Amerika een der meest gevreesde kwalen; vooral het »pear-blight« heeft dikwijls groote schade veroorzaakt.

In het voorjaar worden het eerst de jonge bloesems aangetast; sommige bloemtrossen sterven af onder het aannemen van een bruine kleur en verdrogen, alsof zij door de vorst gedood zijn. Deze „blossom-blight« verspreidt zich dikwijls met een verbazende snelheid door den boomgaard heen. Daarnaast treedt op de »twig-blight«, die de toppen der jonge twijgen aantast en zich gedurende de geheele groeiperiode kan uitbreiden, telkens weer nieuwe jonge toppen aantastende. De jonge bladeren sterven daarbij af en worden zwart, de twijg zelf ondergaat hetzelfde lot en wanneer de ziekte hevig

¹⁾ L. c. en bulletin 28 van het U. S. Dep. of Agric. Div. of Veg. Physiol and Pathol.

is, vertoont zich, vooral bij vochtig weer, aan de oppervlakte der zieke deelen een slijmerig vocht. De intensiteit, waarmee de „twig-blight” zich over een tak uitbreidt, is zeer verschillend, soms blijft zij beperkt tot de jonge uiteinden der twijgen, een andermaal echter gaat zij snel voort en breidt zich naar omlaag over den tak uit, zoodat deze binnen korten tijd geheel is afgestorven en bezet met zwarte, verdroogde bladeren. Eindelijk kunnen ook de jonge vruchten worden aangetast; zij worden dan spoedig zwart en verdrogen, terwijl de ziekte langs den vruchtsteel op den tak kan overgaan ¹⁾.

BURRILL ²⁾ is de eerste geweest, die deze ziekte nader bestudeerde en hierbij constateerde hij, dat in de zieke deelen steeds bacteriën aanwezig waren, die vooral in grooten getale voorkwamen in de schors der aangetaste twijgen en in het slijmerige vocht, dat zich soms buiten op die twijgen vertoonde. Zijn proeven toonden reeds, dat de ziekte gemakkelijk over te brengen was op gezonde boomen (als infectiemateriaal gebruikte hij stukjes schors van zieke twijgen of het slijmerige vocht, dat er buiten op zat) en dat de «fire-blight» dus zeker een infectieziekte was. Die proeven werden later herhaald door ARTHUR ³⁾ en aangevuld door nieuwe, waaruit bleek, dat door filtratie door een bougiefilter het virulente

¹⁾ Zie o.a. Waite U. S. Dep. Agric. Yearbook 1895 bl. 295.

²⁾ Proc. Am. Assoc. Adv. Sc. XXIX 1881 bl. 583.

³⁾ Proc. Am. Ass. Adv. Sc. XXXIV 1885 bl. 295 (en Bot. Gazette X bl. 348, Gardeners Cronicle XXIV bl. 586.)

vocht haar besmettende kracht verloor. De meest overtuigende proeven werden echter eerst verricht door WAITE¹⁾, die met reinculturen van *Bacillus amylovorus* infecteerde en definitief bewees, dat deze bacterie de oorzaak der ziekte was.

Ook werd ontdekt door dezen laatsten onderzoeker, hoe in de natuur de besmetting plaats vindt. Hij ontdekte n.l., dat de bacteriën dikwijls in de nectariën van den bloesem te vinden zijn en hier als saprophyten een tijdlang kunnen leven om vervolgens in den bloemsteel te dringen, aldus de „blossom-blight” veroorzakend, en ten slotte in de twijg over te gaan. Hiermee was tevens opgehelderd, hoe het mogelijk is, dat in het voorjaar de „blossom-blight” zich met zulk een verbazende snelheid over een boomgaard kan uitbreiden: de talrijke bloem-bezoekende insecten brengen de parasieten van de eene bloem naar de andere en bewerken door besmetting der nectariën een zekere infectie van de plant. Arthur's opvatting vond steun in zijn proeven, waarbij hij in het voorjaar de besmetting van sommige takken kon beletten door hen te bedekken met een muskietennet en zoo de insecten te weren; inderdaad bleken deze takken alle verschoond te blijven, terwijl van de onbedekte vele werden aangetast. In de practijk is dit middel ter bestrijding der ziekte natuurlijk niet toe te passen, al was het alleen, omdat op deze wijze de natuurlijke bevruchting belet wordt en van vruchtzetting dus niets zou komen.

¹⁾ Proc. Am. Ass. Adv. Sc XL bl. 315 en XLVII bl. 427.

Behalve infectie der nectariën door middel van insecten zal ook wondinfectie der takken wel vaak plaats vinden. Wanneer de ziekte zich het eerst openbaart aan de toppen der jonge twijgen of aan de jonge vruchten, is het waarschijnlijk, dat vogels of insecten door kleine verwondingen de bacteriën in het plantenweefsel gebracht hebben; het is echter ook mogelijk, dat de parasieten in staat zijn, rechtstreeks in het jonge, teere weefsel der groeitoppen te dringen.

Hoe jonger het aangetaste weefsel is, des te sneller de voortgang der ziekte; onvolwassen vruchten worden sterker aangegrepen dan volwassen, en in takken ouder dan één jaar blijven de kunstmatige infecties gewoonlijk zonder resultaat.

Gedurende den zomer breidt zich de ziekte over de takken uit; op een zeker oogenblik komt zij echter gewoonlijk tot staan en een scherpe grens scheidt dan het nog levende van het afgestorven deel van den tak. Het doode gedeelte droogt weldra uit en verschrompelt en hiermee sterven tevens de daar aanwezige bacteriën, want *B. amylovorus* schijnt niet bestand te zijn tegen uitdroging. Soms tijds echter blijft de ziekte langzaam voortgaan, ook gedurende het najaar en den winter en dit schijnt vooral voor te komen, wanneer de infectie eerst laat in den zomer of in den herfst plaats vond. Het volgend voorjaar, wanneer in den boom weer een krachtige worteldruk ontstaat, vindt op die plaatsen meestal een sterke afscheiding plaats van het reeds vermelde slijmerige vocht, dat de bacteriën in groot aantal bevat. Dit

vocht lokt de insecten, die in dien tijd van het jaar weinig voedsel kunnen vinden, aan, de dieren besmetten zich met de mikroben en wanneer de pere- en appelboomen bloeien, brengen zij de parasieten allicht weer in de nectariën. Zoo stelt zich WAITE ¹⁾ de levensgeschiedenis van den parasiet voor.

Ook bij deze ziekte zal men bij de bestrijding zich ten doel moeten stellen, de omstandigheden, die de ziekte in de hand werken, tegen te gaan en den parasiet zelve zooveel mogelijk te vernietigen. Het eerste is hier echter moeilijker dan bij vele andere ziekten, omdat krachtig groeiende boomen, die veel jonge scheuten maken, het meest te lijden hebben en alle omstandigheden, die den groei bevorderen en dus in het algemeen den boom gunstig zijn, tevens de ziekte in de hand werken. Wil men dus de ziekte bestrijden, dan zal men er zich op toe moeten leggen, den groei te beperken door niet te bemesten, wanneer het niet hoog-noodig is, den grond slechts met mate te bewerken en ook bij het snoeien te zorgen, dat de boom hierdoor niet al te zeer tot de vorming van nieuwe loten wordt aanzet. Practisch beter uitvoerbaar en ook van meer belang is het echter te zorgen, dat de aangetaste twijgen, alle zonder uitzondering zoo spoedig mogelijk vernietigd worden. ²⁾

Peer en kwee hebben het meest te lijden, in mindere mate de appel; voorts worden nog aan-

¹⁾ l.c.

²⁾ Waite Yearbook 1895.

Duggar. (Cornell Univ. Sta.Bull. 145. 1898).

getast: eenige wilde *Pirus*- en *Prunus*-soorten, *Crataegus*, *Sorbus aucuparia* en *Ame-lanchier canadense*.

In Europa is deze ziekte nog niet verschenen; in Amerika is zij echter maar al te goed bekend en WAITE verklaarde: „there is probably no disease of fruit trees so thoroughly destructive;.... some diseases may be more regular in their annual appearance;.... but when it does appear pear-blight heads the list of disastrous maladies” ¹⁾.

Van de bakterie werd door denzelfden schrijver een korte beschrijving gegeven ²⁾; karakteristiek is de voorliefde voor zwakzure voedingsmedia, voor maltose boven saccharose en glucose, het vermogen om te groeien op versch gesneden peerschijven en het ontbreken van diastase-vorming (de naam berust op een verkeerde waarneming van BURRILL).

§ 8. De Seringenziekte, veroorzaakt door *Pseudomonas Syringae* nov. spec.

In haar uitwendige ziektesymptomen heeft de seringenziekte wel overeenkomst met de in de vorige paragraaf beschreven «twig-blight».

Van deze ziekte geef ik in het Tweede Gedeelte in Hoofdstuk IV een beschrijving, terwijl de parasiet zelf beschreven is in Hoofdstuk V § 5 van hetzelfde Gedeelte.

¹⁾ Yearbook 1895.

²⁾ Proc. Am. Ass. for Adv. of Sc. XLVII 1898.

§ 9. De knobbelziekte der olijven, veroorzaakt door *Bacillus Oleae* (Arcangeli) Trev. (= *Bacillus Oleae tuberculosis* Savastano).

In Italië, Spanje en Portugal en ook in Californië komt een ziekte der olijfboomen voor, waarbij aan de takken, een enkele maal ook aan de wortels, bladeren en vruchten, knobbels ontstaan, die vaak van spleten of diepe plooien zijn voorzien en somtijds ook in het midden een inzinking vertoonen, ontstaan door den dood en de verschrompeling van hun centrale weefsel. Aanvankelijk vleezig, worden de aanzwellingen later houtig en kunnen met den tak, waarop ze gezeten zijn, eenige jaren voortgroeien en in grootte toenemen, maar verdrogen ten laatste en veroorzaken daarbij een gedeeltelijk of geheel afsterven van den tak.

In het voorjaar zijn de eerste aanduidingen der ziekte merkbaar. Op de jonge twijgen, zeldzamer op de drie- of meerjarige, ontstaan doorzichtige plekje's, die weldra een donkerder groene kleur gaan aannemen en op doorsnee is inwendig, in de cambiumlaag of in het binnenste schorsweefsel, een aanvankelijk zeer kleine holte zichtbaar, omgeven door cellen met min of meer abnormale en ziekelijke protoplasten; in die holte bevinden zich bacteriën, somtijds vereenigd tot een bolvormige colonie.

Gedurende het voorjaar begint het weefsel om de holte heen zich hypertrophisch te ontwikkelen en wordt van buiten de eerste aanleg van den knobbel zichtbaar als een kleine verhevenheid op den tak. In den zomer groeit de verdikking slechts weinig,

maar de bakteriën vermeerderen zich in dien tijd sterk, en gaan voort met het vernielen van het inwendige weefsel, zoodat de holte grooter wordt. Hun werkzaamheid komt tegen den herfst tot stilstand en tegelijk hiermee begint dan de knobbel weer in grootte toe te nemen ¹⁾. Aan de vorming der knobbels neemt vooral het buiten den sclerenchymring gelegene, collenchymatische schorsweefsel deel; soms echter groeien ook de binnenste schorslagen mee, zij breken dan door de sclerenchymring heen en vereenigen zich met het collenchym. Allengs gaat in het weefsel der knobbels houtvorming optreden; houtcellen en korte vaten, zooals die in wondhout plegen voor te komen (z.g. »Maserholz«), worden gevormd, gerangschikt in strengen, die zich van uit het normale hout van den tak in den knobbel uitstrekken; bovendien ontstaan onregelmatig verspreide, geïsoleerd liggende, groepen houtelementen²⁾.

Zooals gezegd is, zijn reeds bakteriën te vinden op de plaatsen, waar zich de vlekjes op de takken beginnen te vertoonen en de hypertrophische ontwikkeling van het schorsweefsel nog niet begonnen is. Later ontstaan in de knobbels onregelmatige holten, die bekleed zijn met doode cellen en een troebele, witte massa bevatten, die uit louter bakteriën bestaat. SAVASTANO bewees, dat deze bakteriën steeds alle tot één en dezelfde soort behooren; van deze

¹⁾ Zie Savastano (C. R. Acad. Sc. 103, 1886, bl. 1144.).

Prillieux. Les tumeurs à bacilles etc. (Nancy 1890.) (Annales de l'Institut Agronomique XI).

²⁾ Prillieux, l. c.

gaf hij een korte beschrijving ¹⁾. Zijn infectieproeven ²⁾ hebben bewezen, dat deze *Bacillus Oleae tuberculosis* werkelijk de oorzaak der ziekte is; op takken van zaailingen, geïnfecteerd 27 April, begonnen op 1 Juni de kleine knobbels zich duidelijk te vertoonen, terwijl de infecties op takken van andere boomen (pruim, perzik, abrikoos, druif, vijg, peer, citroen, meloen, roos, *Abies excelsa* en *pectinata*, *Cedrus libani*) geen gevolg hadden; evenmin hadden de infectieproeven op olijftakken, genomen met bakteriën-materiaal afkomstig uit knobbels van andere boomen, het ontstaan der ziekte ten gevolg.

Hoe in de natuur de infectie plaats vindt, is nog niet bekend, misschien zijn de bakteriën uitsluitend wondparasieten; meer waarschijnlijk is het echter, dat zij in staat zijn de intacte schors aan te tasten, wellicht door stomata of lenticellen binnendringend.

Door denzelfden onderzoeker is nagegaan, welke omstandigheden de ziekte in de hand werken. In het algemeen kan men zeggen, dat alle condities, die een weelderigen groei van de boomen doen ontstaan, de ziekte bevorderen: sterke bemesting, krachtige irrigatie of bewerking van den bodem moeten dus vermeden worden, eveneens sterke snoeiing. Maar bovendien meent SAVASTANO, dat op iedere plek van een tak, waar lokaal een sterke groei of weefselwoekering plaats vindt, een predispositie voor de ziekte aanwezig is; wondplekken, ontstaan door hagelslag, vorst (vorstspleten b.v.) of

¹⁾ R. Acad. Lincei 1889.

²⁾ l. c.

andere oorzaken, hebben een ontstaan van callusweefsel ten gevolge en zijn ten gevolge daarvan (naar SAVASTANO's meening) dikwijls de plaatsen, waar de knobbels optreden.

De verschillende variëteiten zijn ook niet alle even vatbaar en in het algemeen hebben de meest productieve 't sterkst te lijden. Ook tusschen de individuen bestaat verschil in vatbaarheid: bij het stekken is het dus wenschelijk steeds hiervoor de individuen te kiezen, die weinig of niet aan de ziekte onderhevig zijn.

In Italië behoort de »rognà dell' olivo« tot de meest gevreesde ziekten en, luidens mededeelingen van een Portugeesch kweeker aan het Phytopathologisch Laboratorium te Amsterdam, richt deze kwaal ook in Portugal zeer groote schade aan. Sedert eenige jaren is zij ook in Californië ¹⁾ opgetreden; zij is daar echter beperkt gebleven tot een klein deel van het land, waar zij echter in sommige boomgaarden niet onbelangrijke schade aanrichtte.

§ 10. Vlekziekte van de boon, veroorzaakt door *Pseudomonas Phaseoli* SMITH.

Sedert eenige jaren is in Amerika een ziekte der stam- en stokboonen bekend, waarbij de peulen en bladeren bruine vlekken krijgen. Het eerst werd haar

¹⁾ Bioletti. The Olive knot (California Sta. Bull. 120, 1898, p. 11; ref. Exp. Sta. Rec. X p. 55).

voorkomen vermeld door BEACH ¹⁾ en door HALSTED ²⁾, die beiden haar als een »bacterial-blight» beschouwden en aantoonde, dat de ziekte zeer besmettelijk was en zich gemakkelijk liet overbrengen op gezonde peulen, wanneer men deze infecteerde met den inhoud der zieke plekken. ERWIN F. SMITH ³⁾ is echter de eerste geweest, die den parasiet (*Pseudomonas Phaseoli*) geïsoleerd en beschreven heeft en door zijn infectieproeven heeft bewezen, dat deze bacterie werkelijk de oorzaak van de ziekte is.

Gewoonlijk begint de ziekte zich te vertoonen in het begin van Augustus. De peulen krijgen plekken, waar het weefsel wat inzinkt en een donkerder groene, eenigszins vette en doorzichtige tint verkrijgt, die allengs overgaat in een bruine of roodachtige kleur, terwijl de randen dier plekken donkerder gekleurd zijn. De velden hebben somtijds zeer van deze ziekte te lijden; zij zien er dan uit alsof zij bespoten zijn met een of andere scherpe vloeistof en het verlies bedraagt somtijds 10 % of meer ⁴⁾.

Door HALSTED ⁵⁾ zijn bestrijdingsproeven genomen, die tot resultaat hadden, dat Bouillie Bordelaise (kopervitriool-kalk-oplossing) een uitstekend middel tegen deze ziekte is; nog betere resultaten werden verkregen door kopervitriool-soda-oplossing (»Soda-

¹⁾ New York Sta. Bull. 48, 1892. (ref. Exp. Sta. Rec IV p. 557)

²⁾ New Jersey. Thirteenth Annul Rep. (1892) p. 283.

³⁾ Proc. Am. Assoc. Adv. Sci. XLVI 1897 p. 288.

⁴⁾ Zie o.a. Sturgis in Connecticut Sta. Twenty-second Ann. Rep. (1898) p. 262.

⁵⁾ New Jersey. Seventeenth Ann. Rep. (1896) p. 328.

Bordeaux»). Bovendien moet gewaakt worden tegen een te sterke bemesting, daar deze de ziekte in de hand werkt. Aan te bevelen is het, geen zaad te gebruiken, afkomstig van een aangetast veld.

In Europa is waarschijnlijk dezelfde ziekte door DELACROIX¹⁾ waargenomen. De ziekte, die hij beschreef als „la graisse, maladie bactérienne des haricots” komt althans in haar uitwendige symptomen zeer overeen met de „bacterial blight” en ook de door hem geïsoleerde bakterie schijnt identiek te zijn met den *Pseudomonas Phaseoli*. Van deze laatste gaf ERWIN F. SMITH een beschrijving²⁾; de parasiet schijnt nauw verwant te zijn met de geelziek-bakterie (*Ps. Hyacinthi*), met *Ps. Stewarti* (oorzaak der maisziekte) en *Ps. Campestris* (oorzaak der zwartnervigheid der kool).

Onder de boonensoorten, die in Amerika het meest van de ziekte te lijden hebben, worden genoemd de Lima-boonen en de „wax-beans”. DELACROIX³⁾ nam de ziekte waar aan verschillende variëteiten („Flagolet”, „Bagnolet” enz.).

C. Ziekten van het parenchym, die gepaard gaan met rottingsverschijnselen (rottingsziekten).

¹⁾ Journ. Agr. pratique LXIII 1899 p. 640. (ref. Hollrung, Jahresbericht über die Neuerungen und Leistungen für Pflanzenschutz. Das Jahr 1899. bl. 77.)

²⁾ l. c. en „The Cultural Characters etc.” (U. S. Departm. Agric. Div. Veg. Phys. Path. Bull. 28, 1901).

³⁾ l. c.

§ 11. Rotting der aardappelknollen (*Bacillus solaniperda* KRAMER, *Bacillus solanacearum* SMITH, *Bacillus atrosepticus* nov. spec., en andere soorten).

Sedert lang is het bekend, dat de z.g. natte rotting der aardappelen niet alleen door de schimmel der aardappelziekte (*Phytophthora infestans*) veroorzaakt kan worden, en dat fungi bij die rotting, die op het veld en op de bewaarplaatsen zoo dikwijls voorkomt en soms zooveel schade veroorzaakt, zelfs zeer vaak ontbreken. De knollen zijn dan uitsluitend door bakteriën bewoond, onder welke het boterzuurferment (*Bacillus amylobakter* v. TIEGHEM = *Clostridium butyricum* PRAZMOWSKI) een van de meest gewone verschijningen is. Door verschillende onderzoekers (REINKE en BERTHOLD ¹⁾, VAN TIEGHEM ²⁾) werd deze bacterie voor de oorzaak der ziekte gehouden en in de handboeken (SORAUER, FRANK, KIRCHNER, e. a.) werd hun opvatting algemeen aangenomen en *Clostridium butyricum* opgegeven als de parasiet, die de oorzaak van de natte rotting is. In Hoofdstuk I wees ik er reeds op, dat een zoo obligaet anaërob als deze bacterie nooit een plantenparasiet kan zijn en dat haar optreden bij deze ziekte dus secundair is, hetzij dan dat de aardappelen gedood zijn door verstikking, zooals bij de proeven

¹⁾ Die Zersetzung der Knollen durch Pilze 1879.

²⁾ Bull. Soc. Bot. de France XXXI 1884.

van WEHMER ¹⁾, of op andere wijze. (Ook wanneer parasitische zwammen den aardappel hebben aangetast treedt bij voldoende vochtigheid het boterzuurferment op.) ²⁾

De eerste, die echter aangetoond heeft, dat er wel degelijk aërobe bakteriesoorten voorkomen, die in staat zijn de aardappelen aan te tasten en tot rotting te doen overgaan, is KRAMER ³⁾ geweest, die uit rotte aardappelen een aërobe bacterie, *Bacillus solaniperda* isoleerde en door nauwkeurige en over-

¹⁾ Studien über Kartoffelkrankheiten. Centr. f. Bakt. 2e Abth. IV p. 540.

²⁾ Een andere vraag is, of in deze gevallen *Clostridium butyricum* de oorzaak is van het in oplossing gaan der middenlamel van den celwand en dus van het overgaan van het aardappelweefsel in een breiachtige massa.

Al heeft deze kwestie met de aardappelrotting, uit een phytopathologisch oogpunt beschouwd, niets te maken, zoo wil ik toch hier in 't kort melding maken van eenige proeven, die mij de overtuiging hebben gegeven, dat zelfs aan dit proces het boterzuurferment geen deel neemt.

Dompelt men een ongereinigden aardappel in water, dan treedt bij de decompositie, die na de afsterving van het weefsel volgt, een bepaalde bakteriënflora op, waarvan WEHMER (l. c.) eenige belangrijke soorten vermeld en afgebeeld heeft en die een isoleering der afzonderlijke cellen bewerkt, die op den bodem van het water zinken, terwijl het losse kurkhuidje aan de oppervlakte blijft drijven.

Tracht men echter uit een gezonden aardappel met een kurkeboor steriele cilindertjes uit te boren en dompelt men deze in reageerbuisjes met steriel water, dan zal dit vaak gelukken en geen bakteriënflora optreden; de aardappelcilindertjes sterven onder zwartkleuring af. Een enkele maal zal echter een spore van het overal aanwezige boterzuurferment meegegaan zijn en in de buisjes een ontwikkeling van deze bacterie ontstaan. De aardappelcilinders nemen dan geen zwarte kleur aan maar vallen ook niet in hun afzonderlijke cellen uiteen. Het geheele aardappelcilindertje blijft een harde massa. Het overgaan der aardappels bij luchtafsluiting in een weeke pap moet dus aan een andere soort uit bovengenoemde bakteriënflora toegeschreven worden.

³⁾ Untersuchungen über die Nassfäule der Kartoffeln (Österr. Landw. Centralbl. I p. II.).

tuigende proeven bewees, dat deze een virulente parasiet was en de oorzaak van de ziekte ¹⁾).

Dat deze parasiet echter niet de eenige bakterie is, welke de aardappelen tot rotting kan brengen, en dat MIGULA'S onderstelling „dass unter Nassfäule der Kartoffeln möglicherweise verschiedene Krankheiten verstanden werden, die sich, wenn man den Ausdruck hier brauchen will, in ihrem klinischen Bilde sehr ähnlich sind“, volkomen juist was, is door latere onderzoeken bewezen.

De Solaneën-parasiet, *Bacillus solanacearum* SMITH (zie § 2 van dit hoofdstuk), tast n.l. ook de knollen der aardappelplant aan en brengt deze tot rotting; de door mij geïsoleerde *Bacillus atrosepticus* (zie Hoofdstuk III van het Tweede Gedeelte) heeft dezelfde werking op jonge knollen; de, door FRANK wel-is-waar zeer onvolledig beschreven *Micrococcus phytophthorus* ²⁾ doet eveneens de aardappelknollen tot rotting overgaan en eindelijk is door LAURENT'S proeven ³⁾ waarschijnlijk gemaakt, dat verschillende vulgaire bakteriesoorten, die gewoonlijk een saprophytisch leven lijden, in staat zijn aardappel-parasieten te worden, wanneer zij voor rotting zeer vatbare exemplaren van aardappels tot hun beschikking hebben en in virulentie kunnen toenemen door achtereenvolgens over te gaan op allengs minder vatbare exemplaren of variëteiten, terwijl die viru-

¹⁾ Zie over deze proeven ook ERWIN SMITH. Bacterial diseases (American Naturalist 1896).

²⁾ Centr. f. Bakt. 2^o Abth. V. p. 98.

³⁾ Ann. Inst. Pasteur, décembre 1898.

lentie weer verdwijnt, wanneer de bakterie gecultiveerd wordt als saprophyt, b.v. op kunstmatige voedingsbodems. Verschillende soorten bakteriën heeft LAURENT virulent kunnen maken door hen af te strijken op schijven van aardappels, die tot een voor rotting zeer vatbare variëteit behoorden en waarvan hij kunstmatig de vatbaarheid nog verhoogd had; dit laatste bracht hij tot stand door de schijven te dompelen in een sodaoplossing van 10/100 en aldus alkalisch te maken. Hadden de bakteriën eenmaal deze vatbare aardappels aan het rotten gebracht, dan was een overenting uit den rottenden aardappel op schijven van een meer resistente variëteit in staat om ook deze tot rotting te doen overgaan. Op deze wijze kon LAURENT verschillende bakteriesoorten (*Bacillus coli communis*, *Bacillus fluorescens putidus*, *Bacillus enteridis*, *Bacillus typhosus* en andere) virulent maken.

Het is dus zeer waarschijnlijk, dat ook in de natuur nog andere bakteriën dan *Bacillus solani-perda*, *Bacillus solanacearum*, *Bacillus atrosep-ticus*, *Micrococcus phytophthorus* (?), in staat zullen zijn aardappelrotting te weeg te brengen.

Ter bestrijding van deze bakterieele ziekte zal het in de eerste plaats noodig zijn de vatbaarheid der planten te beperken en ook hieromtrent heeft LAURENT ¹⁾ zeer belangrijke onderzoekingen gedaan, waarbij bleek, hoezeer de vatbaarheid geïnculceerd wordt door de voeding: stikstof- en kalkbemesting

¹⁾ l. c.

maakten de aardappels steeds vatbaar voor rotting; de kali scheen in dezelfde richting te werken; daarentegen verhoogde een phosphorbemesting steeds de resistentie en ook het natron oefende een soortgelijke werking uit.

Op welke wijze de bakteriën in de knollen dringen, is dikwijls moeielijk uit te maken; wondinfectie is wellicht het meest voorkomend; misschien kunnen de bakteriën ook door de lenticellen van de intakte kurkhuid heen naar binnen dringen.

§ 12. De rotting der penen (*Daucus Carota*), veroorzaakt door *Bacillus carotovorus* JONES.

Door JONES ¹⁾ werd een ziekte der penen beschreven, waarbij de vleezige wortel geheel in rotting ging. Op het veld schijnt deze ziekte zeer verwoestend te kunnen optreden, en ook op de bewaarplaatsen gaat de rotting snel voort, zoodat soms de geheele oogst verloren gaat. Gewoonlijk begint de rotting aan den top van den wortel en schrijdt snel naar omlaag voort, waarbij het weefsel van den wortel overgaat in een bruine, weeke massa. De middenlamellen worden daarbij opgelost, zoodat de cellen van elkaar geïsoleerd worden.

Fungi zijn in de rottende wortels niet te vinden, maar zij wemelen van bakteriën, die, althans in het begin van de ziekte, alle tot dezelfde soort behooren;

¹⁾ Centr. f. Bakt. 2e Abth. VII 1901 p. 12.

zij dringen tusschen de cellen voort, nooit begeven zij zich in de cellen.

De uitvoerige en conscientieuze infectieproeven van JONES bewezen niet alleen, dat de geïsoleerde bacterie de oorzaak van de rotting was, maar ook dat zij voor vele andere planten pathogeen was.

Zeër gemakkelijk waren tot rotting te brengen: tomatenvruchten, vooral in onrijpen toestand, onrijpe vruchten van Spaansche peper en eierplant (*Solanum melongena*), wortels van raap, ramenas, schubben van uien, jonge bladstelen van selderij; ook *Pastinaca*, boksbaard (wortels?) waren tot rotting te brengen, en eveneens bladeren en bloemstelen van hyacinthen, vooral wanneer de infectie in jong weefsel plaats vond; de stam en vleezige middennerf van kool waren tot rotting te brengen. Niet vatbaar waren: bloemkool, aardappelen, beetwortels, zoete *Batatas*-knollen, sinaasappelen, bananen, appels en peren. De rotting schrijdt snel voort: een week na de infectie zijn de onrijpe tomaten reeds overgegaan in een breiachtige massa. Door JONES werd tevens een zeer uitvoerige beschrijving van den parasiet gegeven.

De bacterie is zeer gevoelig voor uitdroging en is bij lagere temperatuur veel minder werkzaam dan bij hoogere: koele en droge ligging der wortelen op de bewaarplaatsen is dus aan te bevelen.

§ 13. De rotting der koolrapen, veroorzaakt door *Pseudomonas destructans* POTTER.

Door POTTER ¹⁾ is een ziekte der koolrapen beschreven, die zich in den herfst op het veld gaat vertoonen. De bladeren worden geel en slap, de oudere het eerst, maar na een dag of veertien zijn alle bladeren te gronde gegaan; de raap zelve blijkt dan bij onderzoek aan het rotten te zijn en voor een deel te zijn overgegaan in een weeke brei van een witte kleur („Weiszfäule”, „white rot”). In deze rotte rapen zijn geen fungi te vinden, niets anders dan bacteriën.

Uit de weeke massa werd een bakteriesoort geïsoleerd en met reïnculturen hiervan infectieproeven verricht, die positieve resultaten hadden. Reeds vijf dagen na infectie waren de aanvankelijk gezonde rapen voor een groot deel weggerot.

De bacterie is waarschijnlijk wondparasiet.

POTTER deelt mee, dat de bacterie een cytase afzondert en door de celwanden heendringt en dat de bacterie de cellen doodt door middel van afgescheiden oxaalzuur. Deze beide zaken mogen echter nog wel eens nauwkeurig worden nagegaan voordat zij als bewezen kunnen beschouwd worden.

Infectieproeven op andere gewassen dan koolrapen werden niet verricht.

Een zeer korte karakteristiek der bacterie werd ²⁾ door POTTER gegeven.

¹⁾ Über eine Bacterienkrankheit der Rübe (*Brassica Napus*) (Centr. f. Bakt. 2e Abth. VII. p. 282).

²⁾ l. c. p. 359.

§ 14. De rotting der Irisplanten, veroorzaakt door *Pseudomonas Iridis* nov. spec. en *Bacillus omnivorus* nov. spec.

Deze ziekte heb ik in Hoofdstuk II van het Tweede Gedeelte beschreven, terwijl in Hoofdstuk V van hetzelfde gedeelte (§ 3 en § 4) een beschrijving der parasieten gegeven is.

§ 15. De rotting der hyacinthen, veroorzaakt door *Bacillus Hyacinthi septicus* HEINZ.

Bij exemplaren van geforceerde hyacinthen werd door Heinz ¹⁾ een ziekte geconstateerd, waarbij de planten in ontwikkeling achterbleven. De bladeren werden geel, verschrompelden en verdorden en de bloemen vielen vroegtijdig af, soms reeds als knop, vóór de ontluiking; ten slotte gingen de stengel en de bladeren in rotting, terwijl de bol zelf bij onderzoek zich ook reeds verweekt en verrot toonde. De zieke weefsels zaten vol bakteriën, die alle tot dezelfde soort bleken te behooren.

HEINZ volbracht welgeslaagde infectieproeven door de bladeren, stengels of bollen met bakteriën-materiaal afkomstig van reinculturen te besmetten. Wordt de bol geïnfecteerd en aan het rotten gebracht, dan zet zich de rotting weldra voort op bladeren en stengel; het omgekeerde vindt echter nooit plaats.

¹⁾ Centr. f. Bakt. 1e Abth. V 1889.

Behalve de hyacinth bleek ook de ui vatbaar voor deze rottingsziekte: infecties op deze plant hadden eveneens snel voortgaande rotting ten gevolge. Geen ziekte ontstond na infectie bij Richardia, Chlorophyllum, Triticum, Phaseolus.

Een korte beschrijving van den parasiet werd eveneens gegeven.

Ofschoon het artikel van HEINZ zeer kort en beknopt is, laten de vermelde feiten toch geen twijfel aan de juistheid van de opvatting van den schrijver en ik heb daarom gemeend *Bacillus Hyacinthi septicus* in de rij der plantenparasieten te moeten opnemen. De ziekte schijnt echter slechts zelden voor te komen; van eenige groote bollenkweekers, bij wie ik informeerde, of deze ziekte hun bekend was, ontving ik althans tot antwoord, dat noch op het veld, noch bij het forceeren in de kas, deze kwaal ooit door hen was waargenomen. Wel is het een bekend feit, dat hyacinthenbollen, die aan het geelziek lijden gemakkelijk in rotting overgaan, maar dit is een secundair verschijnsel, dat alleen voorkomt bij bollen, die door het geelziek grootendeels verwoest zijn en waarbij allerlei saprophyten, o.a. het boterzuurferment, een rol spelen. In ons land schijnt dus *Bacillus hyacinthi septicus* zelden of nooit als parasiet op te treden.

HOOFDSTUK III.

Overzicht der nog onvolledig bekende ziekten, die aan de werking van bakteriën toegeschreven worden.

Stengelrotting of „Zwartbeenigheid” der aardappelstruiken (*Bacillus atrosep-ticus* nov. spec.).

In Hoofdstuk III van het Tweede Gedeelte deel ik mede de resultaten van mijn eigen onderzoekingen omtrent deze ziekte, die hoogst waarschijnlijk veroorzaakt wordt door de bacterie (*Bacillus atro-septicus*), die ik uit de zieke planten isoleerde. Daar het mij nog niet gelukte door infectie met reïnculturen de karakteristieke ziektesymptomen te doen optreden, voeg ik deze ziekte voorloopig nog bij de onvolledig bekende.

Vlekziekte van den moerbeiboom (*Bac-terium* Mori BOYER et LAMBERT = (?) *Bacillus* Cubonianus MACCHIATI).

Door eenige Italiaansche onderzoekers ¹⁾ is een ziekte van den moerbeiboom beschreven, die zeer waarschijnlijk door bakteriën veroorzaakt wordt. Ook door BOYER en LAMBERT is in een korte mede-

¹⁾ CUBONI e GARBINI Sopra una malattia del gelso (Rend. Ac. Lincei VI. 1890).

VOGLINO. Ricerchi etc. (Coltivatore XL. 1894).

PEGLION. Bacteriosi del gelso. (Centr. f. Bakt. 2e Abth. III 1897 p. 10.)

deeling ¹⁾ melding gemaakt van een dergelijke ziekte, die vermoedelijk identiek is met de vorige.

De ziekte tast de bladeren en de jonge scheuten aan. Op sommige plaatsen van het blad treedt een zwakke verkleuring op, die allengs overgaat in een vlek van onregelmatige gedaante, welke doet denken aan een vorstbeschadiging doch hiervan afwijkt door haar geringere afmetingen en donkerder kleur. Vooral op de nerven vertoonen zich deze vlekken; de bladeren gaan zich daarbij gewoonlijk krommen en plooien, en scheuren dikwijls geheel in flarden. De takken zijn bedekt met ovale wratjes, aanvankelijk gewelfd en van een lichtbruine kleur, later in het centrum ingezonken en donkerder van tint. Deze inzinking kan zich verdiepen, zoodat de epidermis scheurt en het daaronder gelegen zieke weefsel voor den dag komt; dit weefsel wordt allengs dieper uitgevreten en verteerd, soms tot op het merg. Wordt de twijg aan haar groeitop aangetast, dan kan, als de aantasting eenzijdig is, een kromming het gevolg zijn; wanneer echter de ziekte zich rondom de twijg uitstrekt, dan sterft zij gewoonlijk spoedig geheel af.

Met deze ziektebeschrijving van PEGLION ²⁾ stemt die van BOYER en LAMBERT geheel overeen.

In de zieke weefsels zijn bacteriën in grooten getale aanwezig en in een vochtige omgeving treden hieruit spoedig (na 10 of 12 uur) slijmerige druppels naar buiten, die wemelen van mikrogen.

¹⁾ C. R. Ac. Sc. 67 (1893) p. 342.

²⁾ l. c. p. 11—12.

Zoowel CUBONI, GARBINI en PEGLION als BOYER en LAMBERT deelen mee, dat zij welgeslaagde infectieproeven hebben verricht met reinculturen der bakterie. De uiteenzetting dier proeven is echter nog zeer onvolledig en de korte beschrijvingen, die de verschillende auteurs van de door hen geïsoleerde bakterie geven, komen ook niet met elkaar overeen; ik meen derhalve, dat de bakteriëele aard van deze ziekte wel zeer waarschijnlijk, doch nog niet be-
wezen is.

Naar de meening van CUBONI en GARBINI is de mikrobe, die zich in de zieke deelen bevindt, dezelfde als die, welke de oorzaak is der ziekte van de zijderupsen, bekend onder den naam van „flacherie”. Dat de bakterie pathogeen is voor de zijderupsen, schijnt uit hun proeven en uit die van MACCHIATI en VOGILINO wel te volgen; of de veroorzaakte ziekte echter dezelfde is als die, welke „flacherie” genoemd wordt en die zulke groote verwoestingen kan aanrichten in de zijderups-kwekerijen, is zeer de vraag.

De vlekziekte der moerbeiboomen, die zeer verspreid is in Italië, wordt daar ernstig gevreesd en in 1896 waren de verwoestingen in de boomkwekerijen, vooral aan de jonge planten, zoo groot, dat de kweekers groote schade leden. Ter bestrijding kan niet veel anders gedaan worden dan de aangetaste twijgen spoedig te vernietigen. Van bespuitingen met Bordeaux'sche pap of andere antiseptica is hier weinig heil te verwachten, omdat door deze middelen de bladeren ongenietbaar worden voor de zijderupsen.

Behalve uit Frankrijk en Italië is eenige jaren geleden de ziekte ook uit Victoria gemeld ¹⁾.

Ziekte van de maïs (^{flight} »corn-wilt«) (*Bacillus Zeae* BURRILL).

Op verschillende plaatsen in den staat Illinois (Ver. St. van Amerika) trad in de jaren 1887, 1888 en 1889 een ziekte in de maïs op, die groote verwoestingen aanrichtte ²⁾. Op de velden vertoonden zich plekken, waar het gewas in zijn groei was gestoord; de planten bleven klein en teer en namen een gele kleur aan, die zich het eerst op de onderste bladeren vertoonde. De wortels waren voor een deel afgestorven, terwijl aan de oppervlakte bruine vlekken zichtbaar waren, waarop zich soms een taaie, gelatineuse massa vertoonde. Bij lengtedoorsnee bleek het inwendige stengelweefsel een donkere kleur te hebben, vooral aan den voet, maar ook hoogerop begonnen de knopen donker te verkleuren; de internodiën zagen er gezonder uit. Later, gewoonlijk in den nazomer, werden de bladscheeden aangetast; zij kregen bruine vlekken aan de buitenzijde en het weefsel ging op die plaatsen min of meer in rotting over; aan de binnenzijde was de decompositie nog verder voortgegaan en de geheele oppervlakte was met de, reeds op den stengel waargenomen, taaie, gelatineuze massa in een dunne laag bedekt. Ten slotte ging de ziekte van de bladscheede over op de schijf, die in een vochtige, reukelooze rotting

¹⁾ MAC-ALPINE (Z. f. Pflkr. VIII 1898, bl. 142).

²⁾ Burrill. A bacterial disease of corn (Illinois Agr. Exp. Sta. Bull. 6, 1889).

overging. De aldus aangetaste planten wemelden van bakteriën, en de gelatineuze massa's op stengel en bladeren bestonden uit louter bakteriën-zoëgloea. BURRILL heeft hieruit een bakteriesoort geïsoleerd (*Bacillus Zeae* BURRILL) en met reïnculturen infectieproeven genomen, door de bakteriën op de binnenoppervlakte van de bladscheeden van gezonde bladeren te brengen. Na vier dagen vertoonden zich de bruine vlekken op de buitenoppervlakte.

Het is inderdaad waarschijnlijk, dat wij hier met een bakterieziekte te doen hebben; meer infectieproeven zijn echter nog noodig om dit zeker uit te maken. BURRILL meent deze maïs-ziekte (*«corn-wilt»* ^{*blight*} genoemd, ter onderscheiding van het *«corn-blight»*, ^{*wilt*} veroorzaakt door *Pseudomonas Stewarti*, zie Hoofdstuk I § 6) in verband te moeten brengen met een epidemie, die, te gelijktijd als het *«corn-wilt»*, uitbrak onder de graan-wantsen, welke zich met het zieke gewas konden gevoed hebben en met een bakterieele ziekte, waaraan het vee te Ames (Nebraska) had te lijden. Hij vermoedt dus, dat *Bacillus Zeae* ook voor deze dieren pathogeen is. Van *Bacillus Zeae* gaf BURRILL een korte beschrijving.

Ziekte van *Dactylis glomerata*.

Nauw verwant met de bovengenoemde maïs-ziekte schijnt de *«bacteriose»* te zijn, die RATHAY ¹⁾ aan *Dactylis glomerata* waarnam en die op het door hem onderzochte terrein (een 430 M. hoog gelegen

¹⁾ Über eine Bakterienkrankheit von *Dactylis glomerata* L. (Sitz. Ak. Wiss. Math. Naturw. Cl., 108. Bd. (1899) p. 597).

loofbosch van het Weener zandsteengebied) veelvuldig schijnt voor te komen.

De aangetaste planten onderscheiden zich door hun geringe hoogte en door hun spoedig afsterven en verdrogen, maar vooral door de aanwezigheid van een citroengeel, taai slijm, dat geheel uit bacteriën bestaat en dat de bovenste bladeren, de bovenste deelen van den halm en verschillende deelen van de inflorescentie geheel of gedeeltelijk bedekt; zeer vaak komt het voor op de oppervlakte der halminternodiën en op de buiten- en binnen oppervlakte der bladscheeden. Het mikroskopisch onderzoek toont, dat de bacteriën zich ook in de houtvaten van de aangetaste organen bevinden, soms ook in de intercellulaire ruimten. Zij brengen de middenlamel der celwanden in oplossing, zoodat de cellen van het parenchym geïsoleerd komen te liggen; bovendien schijnt de cuticula der epidermis, waarop zich het gele bakteriënslijm bevindt, aangetast te worden.

Infectieproeven met reïnculturen der geïsoleerde bacterie hadden nog geen resultaat. Toch geeft de beknopte publicatie van RATHAY wel den indruk, dat zijn opvatting juist is en dat de bestudeerde ziekte werkelijk een bacterieele is, en wel een, die, zooals reeds opgemerkt werd, veel overeenkomst vertoont met de door BURRILL beschreven maïs-ziekte (»corn-wilt«). De geïsoleerde bacterie, die door RATHAY in 't kort beschreven werd, behoort wellicht tot de groep, die SMITH ¹⁾ genoemd heeft »the yellow *Pseudomonas-group*«.

¹⁾ Cultural Characters etc. (U. S. Dep. Agr. Div. Veg. Phys. Path. Bull. 28, 1901.)

Knobbelziekte van den Aleppo-den. (*Bacterium Pini* VUILLEMIN).

In de departementen Alpes-maritimes en Bouches-du-Rhône hebben de Aleppo-dennen te lijden gehad van een ziekte ¹⁾, waarbij aan de takken knobbels ontstonden, die veel overeenkomst hadden met die, welke optreden bij de knobbelziekte der olijfboomen (zie Hoofdstuk II § 9). Ook hier bevatten de hypertrophisch ontwikkelde weefsels holten, opgevuld met bakteriën (*Bacterium Pini* VUILLEMIN), die hier echter gerangschikt zijn in duidelijke zoögloeabolletjes, die weer vereenigd zijn tot grootere massa's. De knobbels zelve zijn grooter (zij bereiken soms de grootte van een kippenei) en blijven langer leven dan die van den olijf, terwijl niet alleen de schors maar ook het hout aan de hypertrophische ontwikkeling deelneemt. De bakteriën bevinden zich, evenals bij den olijf, in de door hun werking ontstane holten in de schors en bovendien in de mergstralen van het hout van den knobbel.

Infectieproeven met reinculturen zijn nog niet verricht. PRILLIEUX meent, dat de bakteriën, die deze knobbelziekte der Aleppo-dennen veroorzaken, wel nauw verwant zijn met den *Bacillus Oleae*, maar er toch niet mee geïdentificeerd kunnen worden.

¹⁾ VUILLEMIN. Sur une bactériocécidie etc. (C. R. Acad. Sc. 107 (1888) p. 874). PRILLIEUX. Les tumeurs à bacilles etc. (Nancy 1890), ref. Z. f. Pflkr. I 1891 p. 161.

PRILLIEUX. Maladies des plantes I 1895 p. 33.

Ziekte der zomerviolieren, *Cheiranthus annuus*.

In den zomer van 1900 was ik in de gelegenheid een ziekte der zomerviolieren waar te nemen, die waarschijnlijk als een bacterieele moet beschouwd worden ¹⁾.

Het meest karakteristieke symptoom was de insnoering, die het bovenste gedeelte van den hoofdwortel had ondergaan; de bladeren werden bovendien geel en vielen langzamerhand af, eerst de benedenste later ook de hooger gelegen, en op een doorsnee bleek het houtlichaam van het ingesnoerde wortelgedeelte en van de stambasis bruin of zwart gekleurd te zijn.

De houtvaten waren hier opgevuld met bacteriën, en deze waren reeds vrij ver omhoog doorgedrongen tot in de houtvaten van de onderste zijtakken, dus in organen, die schijnbaar nog volkomen gezond waren. Prof. Beyerinck constateerde, dat alle tot éénzelfde soort behoorden.

Infectieproeven zijn nog niet gepubliceerd, zoodat deze ziekte nog bij de onvolledig bekende moet gevoegd worden.

Ziekte der suikerbieten («la jaunisse»).

Sedert verscheiden jaren komt in Frankrijk, vooral in de departementen Seine-et-Oise en Seine-et-Marne, een ziekte van de bieten voor, «la jaunisse»

¹⁾ Tijdschrift over Plantenziekten VI 1900 bl. 176.

genoemd, die zich jaarlijks verder verbreidt en reeds niet onbelangrijke schade heeft veroorzaakt. Gewoonlijk openbaart zij zich in het begin van Juli. De bladeren der suikerbieten gaan eenigszins slap hangen en weldra treden op de bladschijven, eerst op die der buitenste, later ook op die der binnenste bladeren, fijne witte stippen op (zooals bij de mozaiekziekte der tabak), die vooral bij doorvallend licht zeer duidelijk zichtbaar zijn. Langzamerhand wordt het geheele blad meer geelachtig, sterft af en droogt uit. De eigenlijke biet groeit slecht en blijft klein; het suikergehalte is echter, de afmetingen in aanmerking genomen, normaal. Het volgend jaar kunnen zij, ondanks de ziekte, zaad voortbrengen.

Naar de mededeeling van PRILLIEUX en DELACROIX ¹⁾ wemelen de zieke bladeren van bakteriën en kunnen deze zich in het tweede vegetatiejaar in den bloeistengel, de bracteeën en de kelkbladeren begeven, zoodat de ziekte waarschijnlijk met het zaad kan overgebracht worden.

Infectieproeven met reinculturen werden niet verricht. Wel werd een proef genomen, waarbij zieke bladeren fijn gemaakt en in den grond van een deel van den proeftuin ondergewerkt werden; hierin werden bieten uitgezaaid. Als contrôle werden in een ander, onbesmet, gedeelte van denzelfden tuin eveneens bieten (dezelfde partij zaad) uitgezaaid. De planten, die op het contrôle-veld opkwamen, waren

¹⁾ Une maladie bactérienne de la betterave, »la jaunisse«. (Journ. Agric. prat. 1898, p. 267 en C. R. Ac. Sc. 8 août 1898):

alle gezond, terwijl die, welke op het besmette gedeelte opkwamen, alle door de ziekte waren aangetast. De ziekte schijnt dus in alle geval besmettelijk te zijn.

Ziekte van den pruimeboom (»fire-blight«).

De »fire-blight«, die in Amerika op pere- e. a. boomen zooveel schade kan aanrichten (zie Hoofdstuk II § 7) is nog nooit waargenomen op den gewonen pruimeboom. Door STURGIS ¹⁾ werd echter een ziekte van dezen boom waargenomen, die zich geheel voordeed als de »twig-blight« van den peer en ook hier waren de aangetaste takken vol bakteriën. Pogingen om de bakteriën in reïncultuur te kweken mislukten en overbrenging van de ziekte op peretakken gelukte evenmin.

Ziekte van de selderij (*Bacillus Apii* (Brizi) Mig).

In Italië, vooral in het Po-dal, trad in 1897 een ziekte op in de selderij, die door BRIZI ²⁾ beschreven is en naar zijn meening door bakteriën veroorzaakt was. Bij deze ziekte verliest de basis der bladstelen haar kleur en op het groene bovenaardsche gedeelte treden gele vlekken op, onder welke het weefsel gaat inzinken en die zich allengs onder het aannemen van een meer roodachtige kleur over den geheelen bladsteel uitbreiden. Dergelijke bladstelen en ook de bijbehorende bladschijven gaan spoedig in een rottende, vochtige massa over.

¹⁾ Connect. Agr. Exp. Sta. 18th Annual. Rep. (1894).

²⁾ Centr. f. Bakt. 2e Abth. III.

In een vochtige omgeving treedt uit de zieke deelen een slijmerige vloeistof te voorschijn, die na één of twee dagen als een vette druppel op de vlekken van den bladsteel komt te liggen. Deze druppels wemelen van bakteriën, die ook reeds bij het eerste optreden der vlekken in het daaronder gelegen weefsel van den bladsteel te vinden zijn.

De ziekte begint steeds op te treden in het zachte subepidermoidale weefsel, gelegen tusschen de collenchymstrengen maar strekt zich spoedig ook over het collenchym uit. Ten slotte worden de vaatbundels aangetast; het phloem blijft het langst gespaard. Langs de houtvaten verspreiden de bakteriën zich snel over den bladsteel en komen zoo in het weefsel van de bladschijf. Hier openbaart de ziekte zich door het optreden van vlekken, aanvankelijk van een vale tint, weldra meer bruin van kleur. De infectie der bladschijven is nooit primair, maar gaat steeds uit van de vaatbundels, die van uit den bladsteel geïnfecteerd zijn.

Een zeer korte beschrijving der geïsoleerde bacterie (*Bacillus Apii* (BRIZI) Mig.) werd door BRIZI gegeven ¹⁾. Infectieproeven werden niet genomen.

Ook door HALSTED ²⁾ werd een beschrijving gegeven van een ziekte in de selderij, welke hij als een bacterieele beschouwde. Waarschijnlijk is dit dezelfde ziekte als de door BRIZI beschrevene.

¹⁾ l. c. p. 579.

²⁾ New Jersey Sta. Bull. Q 1892 (ref. Exp. Sta. Rec. III p. 885).

Zoowel in Amerika als in Italië was de veroorzaakte schade groot. Vele planten waren sterk aangetast en gingen geheel over in één rotte massa.

Stengelgangreen van den aardappel en andere cultuurplanten (*Bacillus caulivorus* PR. et DEL.).

Door PRILLIEUX en DELACROIX werd een ziekte van den aardappel beschreven ¹⁾, waarbij de stengelbasis een bruine kleur aanneemt, hetzij pleksgewijze hetzij over haar geheelen omtrek; het weefsel is hier afgestorven en samengevallen, zoodat de stengel daar ingesnoerd of ingedeukt is of ook een gleuf vertoont, in alle geval smaller is dan op zijn nog gezond, turgescient gedeelte. De aangetaste weefsels wemelen van bakteriën.

Infecties met deze bakteriën, die overeenkomst schijnen te vertoonen met *B. pyocyaneus* en *B. fluorescens*, werden door PRILLIEUX en DELACROIX, naar zij meedeelen, met gunstig gevolg verricht. Later ²⁾ werd door hen een dergelijke ziekte nog waargenomen aan *Clematis*, *Pelargonium*, *Gloxinia*, *Cyclamen*, *Vitis* en *Begonia*, waar de bladschijf wordt aangetast; ook bij deze planten werden in de cellen der aangetaste deelen bakteriën gevonden, die zij met bovengenoemde meenen te moeten identificeeren. Infectieproeven werden op de druif genomen.

¹⁾ C. R. Ac. Sc. 111, 1890.

²⁾ C. R. Ac. Sc. 118, 1894, bl. 668. Zie ook Prillieux. *Maladies des plantes agricoles*, 1897, I bl. 15.

In de aardappelvelden kan het stengelgangreen groote schade aanrichten; vooral de planten, geteeld van doorgesneden knollen, hebben ervan te lijden.

Bladziekte der *Oncidium*-planten (*Bacterium Oncidii* PEGLION).

Een ziekte der *Oncidium*-planten werd door PEGLION ¹⁾ beschreven. Op de bladeren treden gele vlekken op, die zich snel uitbreiden; het zieke bladweefsel ziet er uit alsof het in olie gedrenkt was en verliest zijn turgor, tengevolge waarvan het daarboven gezeten bladgedeelte plotseling omknikt. Soms wordt hetzelfde blad eenige malen achtereen aldus aangestast en kan dan geheel te gronde gaan. In een vochtige omgeving (onder een glazen klok b.v.) kan de ziekte zich snel over het geheele blad uitbreiden en het geheele weefsel doen afsterven. De zieke weefsels rieken aanvankelijk zwak naar overrijpe vruchten en reageeren dan nog zwak zuur; later verspreiden zij een echten rottingsgeur en reageeren duidelijk alcalisch; zij gaan dan spoedig over in een waterige massa, waarin de gedesorganiseerde cellen los liggen en die eenigszins schijnt te gisten.

Geen andere organismen dan bakteriën zijn in het rottende weefsel te vinden. Met reinculturen van deze werden twee bladeren, die in een vochtige ruimte gezet waren, geïnfecteerd, het eene door het materiaal door een wond in het parenchym te brengen, het andere door de bakteriën over de

¹⁾ Bacteriosi delle foglie di *Oncidium* sp. (Centr. f. Bakt. 2e Abth. V p. 33.)

epidermis te strijken. In het eerste geval traden de karakteristieke vlekken reeds na 24 uur, in het laatste geval eerst na drie dagen op. Deze resultaten doen zeker vermoeden, dat de bakteriën de oorzaak der ziekte waren; het aantal infecties is echter te gering om te overtuigen. De bacterie (*Bacterium Oncidii*) ontwikkelt gas en waarschijnlijk ethylalcohol.

Door de zieke deelen weg te snijden en de snee-vlakte met 1‰ sublimaat te ontsmetten, tracht men deze ziekte te bestrijden.

Ziekte van den hennep.

PEGLION ¹⁾ beschreef een ziekte van den hennep, waarbij de stengel grijze plekken krijgt, die iets naar buiten gewelfd zijn en waarvan de oppervlakte barsten vertoont. Het geheele weefsel van de epidermis tot op het houtlichaam is daar afgestorven en holten zijn erin ontstaan, omgeven door sterk gedesorganiseerde cellen, die duidelijk hypertrophisch ontwikkeld zijn. Bakteriënmassa's, samengepakt tot zoöglöea, vullen die holten en wanneer men de zieke stengels in een vochtige omgeving brengt, ziet men na 10—12 uur uit de gebarsten oppervlakte der vlekken de bakteriën in gele droppels uittreden.

PEGLION gaf een korte karakteristiek der geïsoleerde bacterie, die volgens hem groote overeenkomst vertoont met den *Bacillus Cubonianus* Macchiati, die bij de vlekziekte van den moerbeiboom optreedt.

Infectieproeven ontbreken nog.

¹⁾ Z. f. Pflkr. VII 1897, bl. 81.

Rotting der wortelstokken van de schorseneren.

Door HALSTED ¹⁾ is melding gemaakt van een ziekte in de schorseneren, waarbij, gewoonlijk in de maand Juli, het loof geel en bruin wordt en afsterft.

De wortelstokken blijken aan het rotten te zijn en geheel over te gaan in een weeke massa. Geen fungi waren aanwezig, maar de rotte deelen wemelden van bacteriën.

Op gezonde wortelstokken laat de rotting zich gemakkelijk overbrengen. Infecties met reïnculturen zijn niet verricht.

Rotting der katoenvruchten (*Bacillus gossypina* STEDMAN).

In den staat Alabama (Ver. St. N. Am.) komt een ziekte in de katoenvruchten voor, waarbij deze van het centrum uit beginnen weg te rotten; de ziekte wordt eerst van buiten zichtbaar, wanneer de carpellen worden aangetast en het inwendige reeds geheel verteerd is. Door STEDMAN ²⁾ is beweerd, dat een bacterie (*Bacillus gossypina*) de oorzaak zou zijn en dat infecties met reïnculturen in jonge katoenvruchten de ziekte zouden doen ontstaan; door latere onderzoekers ³⁾ is de kwaal echter toegeschreven aan vreterij van insecten, gevolgd door het indringen van verschillende fungi.

¹⁾ New Jersey State Sta. Eleventh Ann. Rep. (1890) bl. 351.

²⁾ Alabama College Sta. Bull. 55 (ref. Exp. Sta. Rec. VI, bl. 145).

³⁾ Alabama College Sta. Bull. 107 (ref. Exp. Sta. Rec. XII, bl. 433).

Rotting der tomaatvruchten.

Tomaten lijden somtijds aan een ziekte, waarbij de vruchtbeginsels of de onrijpe vruchten, gewoonlijk aan het topeinde, een bruine plek gaan vertoonen, die zich kringvorming uitbreidt, terwijl het daaronder gelegen weefsel inzinkt ¹⁾. Zoowel in Frankrijk als in Amerika werd deze ziekte waargenomen en de beide onderzoekers, die haar observeerden, PRILLIEUX ²⁾ en EARLE ³⁾, kwamen tot de conclusie, dat bacteriën de oorzaak waren. Beide vermelden ook in het kort, dat infectieproeven met reïnculturen welgeslaagd zijn. Het is dan ook zeer wel mogelijk, dat dit werkelijk een bacterieele ziekte is; om dit te bewijzen zijn echter uitvoeriger en nauwkeuriger infectieproeven noodzakelijk.

Rotting der uien.

In den staat New-York ⁴⁾ hebben de uientelers jaarlijks in meerdere of mindere mate last, dat de uien op het veld in rotting overgaan. De ziekte kan de buitenste schubben aantasten en de rest intact laten (»slippery onions«) of ook zich vestigen op den hals of de schijf en van hieruit naar binnen dringen; dan gaan een of meer der inwendige schubben in rotting, terwijl de naburige volkomen gezond blijven. Uitwendig is aan deze uien niet te zien, dat zij inwendig rot zijn; bij het

¹⁾ Zie fig. 6 in Prillieux, *Maladies des Plantes* I (1895).

²⁾ l. c.

³⁾ Alabama Coll. Sta. Bull. 108 (1900). (Exp. Sta. Rec. XII, p. 569).

⁴⁾ STEWART. New-York Agr. Exp. Sta. Bull. 164 (1899).

sorteeren wordt daarom nagegaan, of zij »weak in the neck« zijn, door den hals te knijpen: is deze zacht, dan is de ui gewoonlijk inwendig rot en dus onverkooopbaar. In de rottende deelen zijn geen fungi te vinden, maar zij wemelen van bakteriën.

De ziekte trad vooral hevig op, nadat een zware storm vele planten had geknakt en dus wonden had veroorzaakt, die een indringen van wondparasieten mogelijk maakten, en hierop heftige regens waren gevolgd, die den grond dóórnat maakten.

Onmogelijk is het niet, dat hier bakteriën de oorzaak der ziekte waren. Stewart's proeven, waarbij hij de uien in water onderdompelde, bewijzen dit echter niet. Ook door HALSTED ¹⁾ werd bericht over een uienrotting in de staat New-Jersey.

»Sorghum-brand« of »roodziek« (*Bacillus Sorghi* BURRILL).

In verschillende landen is een ziekte van de suikergierst (*Sorghum saccharatum*) bekend, die het eerst door BURRILL ²⁾ bestudeerd is, later door KELLERMANN en SWINGLE ³⁾, en door hen werd toegeschreven aan parasitische bakteriën.

De ziekte openbaart zich door het optreden van gele, later roode vlekken op nagenoeg alle deelen van de plant; het eerst vertoonen zij zich op de binnenvlakte der bladscheeden, weldra ook op den

¹⁾ New Jersey State Sta. Eleventh Ann. Rep. (1890).

²⁾ Illinois Agr. Exp. Sta. Bull. 6 (1889).

Rep. 8, Soc. Prom. Agr. Sc. (1887).

³⁾ First Ann. Rep. Kansas Exp. Sta. 1888.

halm, op de bladschijven, in de inflorescentie (op de kalfjes en de korrels) en zelfs op de wortels. Bij het voortgaan der ziekte nemen de vlekken in grootte toe en kunnen ten slotte het grootste gedeelte van den stengel bedekken, zoodat slechts enkele ongekleurde plekjes overblijven. Op een dwarsdoorsnee door den stengel blijken het vooral de houtvaten, de cellen van het merg en die van de opperhuid te zijn, wier wanden de roode kleur vertoonen.

Onder de mikroörganismen, die zich in de zieke planten bevinden, nemen bacteriën de voornaamste plaats in. De eerste onderzoekers hebben deze ziekte dan ook als een bacterieele beschouwd en een door BURRILL geïsoleerde bacterie (*Bacillus Sorghi*) als de oorzaak van de kwaal. Anderen ¹⁾ hebben in een *Saccharomyceten*-soort, die eveneens in de zieke planten voorkomt, den parasiet willen zien.

In Nederland is de *Sorghum*-brand waargenomen door BRUYNING ²⁾, die aantoonde, dat de ziekte met het zaad kon worden overgebracht, dat n.l. zaden, die op hun zaadhuid de roode vlekken vertoonden, ook dikwijls zieke planten leverden. Er bestaat echter geen reden de door hem geïsoleerde pigmentbacteriën als de ziekteverwekkende parasieten te beschouwen en zeker is zijn meening, dat, met het oog op de roode verkleuring der zieke planten, de

¹⁾ Radais (C. R. Acad. Sc. 1899 I p. 445 en Botanical Gazette XXVIII 1899 p. 65, ref. Z. f. Pflkr. X 1900 p. 213).

Zie ook PALMIERI en COMES (Acc. Sc. Napoli 1883).

²⁾ Arch. Néerl. Serie II Tome I 1898 bl. 297.

parasiet ook vermoedelijk onder de chromogene bacteriën gezocht moet worden, geheel onjuist.

Vlekziekte der vruchten van den noteboom. (*Pseudomonas Juglandis* Pierce).

Door PIERCE ¹⁾ is melding gemaakt van een ziekte der noteboomen, waarbij de vruchtwand zwarte ingezonken plekken verkrijgt; ook bladeren en takken worden aangetast. Hij schrijft de ziekte aan bacteriën (*Pseudomonas Juglandis*) toe.

Bacteriose van de druiven (*Bacillus uvae* CUGINI et MACCHIATI).

In 1891 werd het eerst in Italië waargenomen ²⁾, dat kort na den bloei sommige der jonge druiventrossen een bruine kleur gingen aannemen en spoedig verdroogden; die verkleuring en verdroging strekte zich uit zoowel over de vruchten als over de vruchstelen; soms werden slechts enkele vertakkingen van den tros aangetast. CUGINI en MACCHIATI beschouwen deze ziekte als een bacterieele en noemden de door hen geïsoleerde bacterie *Bacillus uvae*.

MACCHIATI heeft deze ziekte, die jaarlijks in Italië schijnt voor te komen en soms groote verwoestingen aan te richten, nader bestudeerd. ³⁾ In de aangetaste

¹⁾ Bacteriosis of wallnuts (Pacific Rural Press 57 (1899)).

California Fruit Grower 19 (1896).

²⁾ CUGINI e MACCHIATI. La bacteriosi dei grappoli della vite (Staz. speriment. ital. XX 1891 (ref. Z. f. Pflkr. I 1891 p. 226)).

³⁾ Rev. Intern. Vit. et Oenol. I (1894) p. 129 (ref. Exp. Sta. Rec. VI p. 231).

deelen zijn geen fungi te vinden, maar talrijke bacteriën, die alle weefsels doorwoekeren. Infectieproeven met reinculturen schijnen positieve resultaten gehad te hebben.

Ziekte van den wijnstok, »rognà della vite» (*Bacillus ampelopsorae* Trev.).

»Rogna della vite» noemen de Italianen een ziekte van den wijnstok, waarbij knobbels op de takken ontstaan, aanvankelijk week en sponsachtig, later hard en houtig, en die wel wat gelijken op die, welke bij de »Rogna dell' olive» (knobbelziekte van den olijf) optreden. Ook hier ontstaan in de woekeringen lacunen, waarin zich, volgens CUBONI, steeds bacteriën bevinden. De ziekte werd door hem dan ook als een bacterieele beschreven ¹⁾ en de gevonden bacterie (*Bacillus ampelopsorae* Trev.) als den parasiet beschouwd. Infectieproeven werden echter niet genomen.

In alle streken van Italië schijnt deze ziekte voor te komen, echter het meest op vochtige plaatsen.

Wellicht is de ziekte, die door sommige Italianen »tuberculosis delle vite» genoemd en eveneens als bacterieel beschouwd wordt, identiek met de »rognà» ²⁾.

Misschien zijn echter beide ziekten te identificeeren met de kwaal, welke in Duitschland »Grind« of »Krebs des Weinstockes« ³⁾ genoemd wordt en welke

¹⁾ CUBONI. Rend. Acad. dei Lincei Ser. IV, Vol. V (1889) p. 571.

²⁾ CAVARA (Staz. Sperim. Agr. Ital. XXX 1897 p. 482).

³⁾ Zie o. a. SORAUER. Schutz der Obstbäume 1900 p. 165.

FRANK. Krankheiten der Pflanzen I 1895 p. 209.

hoogstwaarschijnlijk een gevolg is van vorstbeschadiging.

»Maladie d'Oléron« van den wijnstok.

Door RAVAZ ¹⁾ is een ziekte van den wijnstok beschreven, die op het eiland Oléron, maar verder ook in de departementen Charentes, Drôme en langs de Middellandsche Zee schijnt voor te komen. Deze ziekte (»la maladie d'Oléron«) werd door hem als een bacterieele beschreven; de bacterie werd geïsoleerd en infectieproeven verricht, die volgens den schrijver positieve resultaten hebben gehad.

Gummosis van den wijnstok (»mal nero«) (*Bacillus gummi* COMES = (?) *Bacillus vitivorus* BACCHARINI = (?) *Bacillus Baccharinii* MACCHIATI).

Door verschillende Italiaansche schrijvers ²⁾ is de ziekte, die onder den naam »mal nero« bekend is en vooral in Sicilië en Calabrië van zich heeft doen spreken, als een bacterieele beschouwd; PRILLIEUX en DELACROIX hebben hen daarin gevolgd³⁾ en eveneens gemeend, dat deze ziekte, die volgens hen in Frankrijk ook voorkwam en wel onder de namen »aubernage«

¹⁾ Ann. Ecole Nat. Agr. Montpellier IX 1895—1896 p 298. (ref. Exp. Sta. Rec. IX p. 1057).

²⁾ Baccarini (*Malpighia* VI 1892).

Cavara (*Staz. Sper. Agr. It.* 1897; ref. Exp. Sta. Record X. p. 859).

Macchiati. (*Bull. Soc. Botan. It.* 1897.; ref. Z. f. Pflkr. VII 1897 p. 354).

Mareschalchi (*Bol. Entom. Agraria* 1898 p. 251).

³⁾ *Revue de viticulture* 1894. (ref. Z f. Pflkr. V 1895 p. 110).

C. R. Acad. Sc. 118, 1894 p. 1430.

of »roncet«, door bacteriën veroorzaakt werd. De weinige infectieproeven, waarop deze schrijvers die meening grondden, zijn echter niet overtuigend en na de onderzoekingen van FOËX en VIALA ¹⁾ SCHILBERSKY ²⁾ MANGIN ³⁾ en RATHAY ⁴⁾ is het ook zeer weinig waarschijnlijk, dat de gevonden bacteriën ⁵⁾ werkelijk als parasieten moeten beschouwd worden. Deze onderzoekers toonden n.l. aan, dat in de zieke deelen niet altijd bacteriën aanwezig waren en de ziektesymptomen, door PRILLIEUX en DELACROIX e. a. als typisch voor den »mal nero« opgegeven (gestoorde ontwikkeling en verkwijning van de takken, gepaard gaande met scheuring van de schors en uitstorting van gom, sterke ontwikkeling van puistvormige lenticellen, misvorming der somtijds zwartgevlekte bladeren, en vooral het optreden van zwarte vlekken in het hout) door zeer verschillende oorzaken kunnen teweeg gebracht worden, b.v. door de *Phylloxera*, of bij sterk optreden van de *Peronospora*, de *Dematophora* of bij wortelrot en dat sommige van de symptomen, n.l. de gomvorming in de houtvaten en de zwartkleuring van het omgevende parenchym zelfs bij gezonde boomen vaak voorkomen.

¹⁾ Revue de viticulture 1894 (ref. Z. f. Pflkr. V p. 110).

²⁾ Gyümölskertész V (ref. Z. f. Pflkr. V p. 305).

³⁾ C. R. Acad. Sc. 118, 1894, p. 1430.

Revue de Viticulture 1895 (ref. Centr. f. Bakt. 2e Abth. II 1896 p. 621.

⁴⁾ Jahresbericht und Programm der K. K. Oenolog u. Pomol. Lehranst. Klosterneuburg (ref. Centr. f. Bakt. 2e Abth. II 1899 p. 620).

⁵⁾ Deze werden door MACCHIATI beschreven als *Bacillus Baccharinii* (Centr. f. Bakt. 2e Abth. IV. p. 332); zie ook Migula. System II p. 778. (*Bacillus gummi* Comes).

Aardappelschurft.

Door BOLLEY ¹⁾ werd de aardappelschurft als een bacterieele ziekte beschouwd en zijn experimenten en infectieproeven schenen ook te bewijzen, dat bacteriën de oorzaak van deze ziekte waren. Geen der talrijke onderzoekers, die na hem de aardappelschurft bestudeerden, hebben bacteriën in de zieke deelen kunnen vinden — THAXTER ²⁾ meende een zwam, *Oöspora scabies*, als de oorzaak der ziekte te moeten beschouwen — en in een latere publicatie ³⁾ scheen BOLLEY de mogelijkheid niet uit te sluiten, dat hij met een fungus had te doen gehad, die uit sterk gesepteerde hyphen bestond.

Ook ROZE ⁴⁾ meende, dat een bacterie (*Micrococcus pellucidus*) oorzaak der ziekte zou zijn. Overtuigende infectieproeven werden door dezen schrijver echter niet meegedeeld.

Ziekte der lupine (*Bacillus elegans* HEGYI).

Door HEGYI ⁵⁾ werd een ziekte der lupine beschreven, die zich alleen op kalkhoudenden grond vertoont. Als de plant een hoogte van 10 c.M. bereikt heeft, begint zij te kwijnen. De nieuwgevormde bladeren worden n.l. klein en onregelmatig van vorm en vertoonen gele, wasachtige vlekken, die spoedig bruin

¹⁾ Agric. Science 1890.

²⁾ Connecticut Sta. Bull. 9.

³⁾ North Dakota Sta. Bull. 4.

⁴⁾ C. R. 1896, bl. 1012.

⁵⁾ Kísérletügyi Közlemények I 5 1899 p. 232.

worden. Daarna vergeelt de geheele plant in korten tijd en verdort snel. In de zieke bladeren bevinden zich verschillende bakteriesoorten, van welke HEGVI er één als den parasiet beschouwt (*Bacillus elegans*).

Corrosie en roodkleuring der tarwekorrels.

Reeds 24 jaar geleden (in 1878) werd door PRILLIEUX ¹⁾ een ziekte in de tarwekorrels geconstateerd, die hij aan de werking van bakteriën toeschreef. De korrels ontwikkelden zich slecht, hadden een gerimpelde oppervlakte en een rose tint, die vooral duidelijk zichtbaar werd na verwijdering van den zaadhuid. In het endosperm was een onregelmatige holte ontstaan, bekleed met een troebele massa, die grootendeels uit bakteriën bleek te bestaan (Prillieux noemde hen: *Micrococcus Tritici*).

Of deze werkelijk de primaire oorzaak zijn dezer zeldzaam voorkomende ziekte, is zeer te betwijfelen. Infectieproeven zijn trouwens niet verricht.

Ziekte der aardbeien.

Een ziekte der aardbeiplanten, waarbij de bladeren zich gaan krullen en een donkere kleur verkrijgen, werd door STONE en SMITH ²⁾ toegeschreven aan een *Micrococcus*.

¹⁾ Ann. Sc. Nat. Botanique 6e Série VIII 1879.
Maladies des plantes I 1895 p. 7.

²⁾ Massachusetts Hatch Exp. Sta. 9th Rep. 1896.

Ziekte van de sla.

Door JONES werd een ziekte van de sla beschreven die hij aan bacteriën toeschreef ¹⁾.

Ziekte der besseboomen.

Over een ziekte der besseboomen in den staat Ohio verscheen een korte mededeeling van DETMERS ²⁾, die meende, dat bacteriën de oorzaak ervan waren.

Gomziekte van het suikerriet (*Bacillus vascularum* COBB).

Door COBB werd beschreven ³⁾ een gomziekte van het suikerriet, die hij aan parasitische bacteriën toeschreef. Hij meent waargenomen te hebben, dat de bacteriën reeds bij het allereerste begin der ziekte aanwezig zijn en allen tot dezelfde soort (*Bacillus vascularum* (COBB) Mig.) behooren. Uit zijn publicaties is echter niet te zien, dat dit met voldoende nauwkeurigheid is nagegaan en de infectieproeven zijn ook niet overtuigend. Misschien is dus deze ziekte toch identiek met de door WAKKER ⁴⁾ als »toprot« beschrevene.

Kanker van den esch.

Wat de oorzaak is van dezen »kanker« der esschen, is nog onbekend. De bacteriën, die zich in de

¹⁾ Vermont Agr. Exp. Sta. Sixth Rep. 1892.

²⁾ Ohio Agr. Exp. Sta. Bull. IV 6 1891.

³⁾ Plant diseases and their remedies (Dep. of Agr. New South Wales 1893).

The cause of gumming in sugar-cane (Agr. Gazette of New-South Wales VI 1896 p. 683).

⁴⁾ WAKKER en WENT. De ziekten van het suikerriet op Java (Leiden 1898) bl. 64.

kankerplekken bevinden, als de oorzaak dezer ziekte te beschouwen ¹⁾, daarvoor bestaat echter geen de minste reden.

Slijmvloed der loofboomen.

Hetzelfde geldt voor de slijmuitstorting, die zich in verschillende vormen bij een aantal onzer loofboomen voordoen. Wat LUDWIG, die deze ziekten het nauwkeurigst bestudeerd heeft, eenige jaren geleden (in 1896) schreef: »noch ist aber ihre Untersuchung noch keinesweges erschöpft'' ²⁾, geldt nog steeds en er bestaat geen aanleiding om een van de vele bakteriesoorten, die in den slijmvloed voorkomen, als de oorzaak der ziekte te beschouwen ³⁾.

¹⁾ NOACK. Der Eschenkrebs, eine Bakteriënkrantheit (Z. f. Pflkr. III 1893 bl. 193).

²⁾ Centr. f. Bakt. 2e Abth. II (1896) p. 337.

³⁾ Zie PRILLIEUX. Maladies des plantes. I (1895) p. 35.

HOLTZ (Centr. f. Bakt. 2e Abth. VII (1901) p. 113), die ook de litteratuur over dit onderwerp vermeldt.

AANHANGSEL.

Ziekten, welke ten onrechte aan de werking van bakteriën zijn toegeschreven.

»Bacteriosis« der anjelierien.

Door WOODS is aangetoond ¹⁾, dat de bladziekte der anjelierien, die in Amerika veel voorkomt en beschouwd werd als een »bacteriosis«, moet toegeschreven worden aan de aanvallen van Aphiden of Thrips, zoodat *Bacterium Dianti* ARTHUR et BOLLEY van de lijst der plantenparasieten moet geschrapt worden.

Mozaiekziekte der tabak.

Door BEYERINCK's onderzoek ²⁾ is bewezen, dat de mozaiekziekte der tabak niet door bakteriën veroorzaakt wordt.

Serehziekte van het suikerriet.

Deze ziekte is door verschillende onderzoekers als een bakterieele beschouwd. De onderzoekingen

¹⁾ Centr. f. Bakt. 2e Abth. III 1897 p. 722.

²⁾ Arch. Néerl. Série II Tome III p. 164.

Centr. f. Bakt. 2e Abth. V 1899 p. 27.

van WENT ¹⁾ en WAKKER ²⁾, al mogen zij nog niet met zekerheid uitgemaakt hebben, wat wèl de oorzaak der ziekte is, hebben althans bewezen, dat bakteriën niet de oorzaak ervan zijn.

1) »De serehziekte« in: WAKKER en WENT. De ziekten van het suikerriet op Java (Leiden 1898) bl. 76.

Mededeelingen van het Proefstation West-Java (Kagok-Tegal 1893).

2) Mededeelingen van het Proef-Station Oost-Java. Nieuwe Serie No. 35.

TWEEDE GEDEELTE.

EIGEN ONDERZOEKINGEN.

HOOFDSTUK I.

Bacillus subtilis en Bacillus vulgatus als rottingsparasieten.

§ 1. Het optreden dezer beide bakteriën bij infectie van plantendeelen met aarde.

Dat twee soorten der hooibakteriën, *Bacillus subtilis* (EHRENBERG) Cohn en *Bacillus vulgatus* (FLÜGGE) Mig. bij hoogere temperatuur sterk toxische eigenschappen bezitten voor vele planten, bleek bij een onderzoek, dat ik verrichtte op aansporing en grootendeels onder leiding van Prof. BEYERINCK te Delft. Het doel van dit onderzoek was, na te gaan, of er onder de vulgaire, gewoonlijk saprophytisch levende, grondbakteriën soorten waren, in staat om levende plantendeelen aan te tasten en van welke dus verwacht kon worden, dat zij onder daartoe gunstige condities hun saprophytische levenswijze konden veranderen in een parasitische. Daartoe werden versch gesneden schijven van verschillende knollen en zaden gelegd in Petri-schalen, en vervolgens bevochtigd met water, waar een relatief groote hoeveelheid aarde flink doorheen geschud was. De aarde, die hiervoor gebruikt werd, was afkomstig van verschillende plaatsen: uit den tuin van het Bakteriologisch Laboratorium te Delft, uit den tuin

van het Phytopathologisch Laboratorium te Amsterdam, uit de bewaarplaatsen van eenige groentenwinkels te Delft, en ten slotte werd dikwijls de buiten op de planten aanwezige aarde hiervoor gebruikt.

De uitkomst van al deze »aardinfecties« was, dat bij lage temperatuur (23° , 30°) nooit rotting ontstond daarentegen wél bij hooge temperatuur (37° , 42°). Deze rottingen bleken veroorzaakt te worden door de twee genoemde bacteriën *Bacillus subtilis* (EHRENBERG) Cohn en *Bacillus vulgatus* (FLÜGGE) Mig. Eén enkele maal nog trad een andere soort op en wel als oorzaak van een rotting, die bij 37° een raap aantastte, nadat deze met aarde geïnfecteerd was. Deze bacterie toonde groote overeenkomst met *B. subtilis* en behoorde zonder twijfel tot de groep der hooibacteriën, echter naar het schijnt tot een der meer zeldzame soorten of variëteiten; het gelukte mij tenminste niet meer deze soort nogmaals uit aarde te isoleeren: de raap-schijven bleven, ondanks herhaalde infecties met grond van verschillende herkomst, ook bij 37° , steeds gezond. Daar het onderzoek uitsluitend gericht was op de algemeen verspreide bacteriesoorten en wij deze

¹⁾ Slechts de schijven van wortelen (*Daucus*) vertoonden soms bij lage temperatuur (zoowel 23° als 30°) rottingsverschijnselen. Overbrenging van zulk rottend materiaal op verse schijven had niet steeds positief gevolg en zoowel in dit opzicht als in de wijze van optreden gedroeg deze rotting zich zeer grillig. De aërobe bacteriënfloora, die zich hierbij ontwikkelde, bestond steeds uit verschillende (meest in hoofdzaak een vier- of vijftal) soorten. Infecties met reinculturen van deze soorten of met combinaties van die culturen bleven zonder gevolg en omtrent de oorzaak van deze rotting ben ik dan ook nog in het onzekere.

bakterie daar blijkbaar niet toe konden rekenen, althans niet in haar virulenten vorm, werd van deze soort niet verder werk gemaakt en alleen met *B. subtilis* en *B. vulgaris* verder geëxperimenteerd.

Het optreden van deze bakteriën als rottingsparasieten, bij infectie der verschillende plantendeelen met aarde op de reeds beschreven wijze, moge uit de volgende tabel blijken :

	37 °	42 °
Topinambour (knol) (<i>Helianthus tuberosus</i>)	<i>Bacillus subtilis</i> treedt somtijds als parasiet op, gewoonlijk blijven echter de schijven gezond.	<i>Bacillus subtilis</i>
Aardappel (knol)	<i>Bacillus subtilis</i> en <i>Bacillus vulgaris</i> (de eerste is de meest voorkomende, de laatste meer uitzondering).	<i>Bacillus vulgaris</i> en <i>Bacillus subtilis</i> (de eerstgenoemde is hier de meest voorkomende).
Hazelnoot (zaad)	<i>Bacillus subtilis</i> of <i>Bacillus vulgaris</i> treden somtijds op; niet zelden blijven echter de schijven gezond.	<i>Bacillus vulgaris</i> .
Kastanje (zaad) (<i>Castanea vesca</i>)	<i>Bacillus vulgaris</i> treedt somtijds op, gewoonlijk blijven echter de schijven gezond.	<i>Bacillus vulgaris</i> .

	37 °	42 °
Koolraap (knol) (Brassica Napus)	}	
Meiraap (knol) (Brassica Rapa)		
Rammenas (knol)		
Radijs (knol)		
Winterwortel (Daucus carota)		
Peen	}	Bacillus vulgatus.
Roode biet		
Seldery (knol)		
Peterselie-wortel		
Witloof (bladeren) (Cichoria Intybus)		
Bloemkool (vleezige [»kool«])	}	
Iris florentina (wortel- [stok])		
Tuinboon (zaad)		
Arachis (zaad)		
	Geen rotting.	Geen rotting.

Zooals uit deze tabel blijkt is de temperatuur van 42 gunstiger dan die van 37 ° voor het tot stand komen van rotting, zoowel voor die welke *B. subtilis* veroorzaakt als voor de door *B. vulgatus* teweeg gebrachte. De oorzaak hiervan is, naar het mij voorkomt, gelegen in de omstandigheid, dat de hogere temperatuur voor beide bacteriën meer nabij het optimum gelegen is ; het is echter ook niet onmogelijk,

dat de plantendeelen bij 42° minder weerstand bieden dan bij 37° .

Uit LAURENT's onderzoeken ¹⁾ scheen te volgen, dat van verschillende saprophytische bakteriën virulente variëteiten in de natuur kunnen ontstaan en dat een van de noodzakelijke voorwaarden hiertoe is, de aanwezigheid van zeer vatbare planten, waarop de bakteriën hun eersten aanval kunnen doen. Onder de omstandigheden, die van grooten invloed zijn op de vatbaarheid der planten, behoorde volgens LAURENT de reactie van het plantensap (welke weer voor het grootste deel bepaald wordt door den graad van aciditeit van het celvocht), en de proeven, waarbij hij de weefsels alcalisch maakte door de schijven gedurende een uur te dompelen in een 1% oplossing van kaliloog, schenen ook te bewijzen, dat deze behandeling de planten vatbaarder maakte voor den aanval der mikrogen.

In de hoop nog andere bakteriesoorten dan de twee gevondene als parasieten voor den dag te zien komen door de infecties met aarde toe te passen op aardappelen, waarvan de vatbaarheid voor rottingsmikrogen vergroot was, werd het middel van LAURENT toegepast en de aardappelschijven gedurende 1 uur in de 1% kali-oplossing gedompeld en daarna met aarde geïnfecteerd. Maar deze proeven leverden niets nieuws: bij lagere temperatuur bleven ook deze aardappelschijven volkomen gezond en bij

¹⁾ Recherches expérimentales sur les maladies des plantes. (Annales de l'Institut Pasteur, décembre 1898).

hoogere temperaturen waren het weer alleen *B. subtilis* en *B. vulgatus*, die als oorzaak van rotting optraden.

Al is mijn bedoeling uitsluitend deze beide soorten in hun kwaliteit van parasieten te beschouwen, zoo wil ik er toch op wijzen, dat wij uit deze proeven met aardinfecties van plantendeelen tevens een zeer gemakkelijke methode leeren kennen, om *B. subtilis* en *B. vulgatus* direct uit aarde te isoleeren en dat zij dus als een soort »ophoopingsproef«, in den zin, die BEYERINCK ¹⁾ aan die uitdrukking gegeven heeft, beschouwd kunnen worden. Het gewone middel, bestaande in het maken van een hooidecoct ²⁾ geeft, althans hier te lande, geen zekere resultaten en nu eens is het *B. vulgatus*, dan weer een andere sporenvormende bakterie, die hierbij voor den dag komt; *B. subtilis* is hierbij zelfs een zeldzame verschijning.

§ 2. *Bacillus subtilis* als rottingsparasiet.

Optreden van deze bakterie.

Zooals uit bovenstaande tabel blijkt, vertoont zich deze bakterie geregeld als oorzaak van rotting,

¹⁾ Zie bv. *Anhäufungsversuche mit Ureumbakterien* (Centr. f. Bakt. 2e Abth. VII 1901 bl. 33) en *Sur les ferments lactiques de l'industrie*. (Archives Néerlandaises Serie II Tome VI p. 212).

²⁾ Flügge. *Mikroorganismen* II 1896 bl. 196.

wanneer men versch gesneden schijven van aardappels besmeert met wat aarde of bevochtigt met water, waarin aarde geschud is, en vervolgens bij een temperatuur van 37° laat liggen, of hetzelfde doet met schijven van topinambour en deze op een temperatuur van 42° houdt; ook schijven van hazelnooten worden na een dergelijke infectie met aarde bij 37° somtijds door *B. subtilis* aangetast, maar niet zelden treedt hier ook *B. vulgatus* als parasiet op, wat ook een enkele maal het geval is bij de met aarde geïnfecteerde aardappelschijven bij 37° . Dikwijls is zelfs een dergelijke besmetting met aarde niet eens noodzakelijk; het is gewoonlijk reeds voldoende een niet gereinigden aardappel eenvoudig in schijven te snijden en op deze wijze wat van de aarde, die tegen de oppervlakte zat, over de snee-vlakte te strijken en de schijven vervolgens in een Petri-schaal te zetten in den thermostaat bij 37° , om reeds na 24 uur de rotting te zien optreden. Op de aardappelschijven vertoonen zich dan enkele kleine, vochtige, donker gekleurde plekjes, die wemelen van bakteriën; spoedig nemen zij in grootte toe en hebben zich een dag later reeds over een groot gedeelte van de schijf uitgestrekt.

Koloniënculturen op vleesch- of moutagar brengen gewoonlijk slechts één soort mikroben voor den dag: *Bacillus subtilis*. Volkomen op dezelfde wijze treedt deze bacterie op topinambourschijven op bij 42° ; de hazelnooten vertoonen meer heldere, slijmerige plekjes en toonen geen verkleuring.

Variabiliteit der bakterie.

De vele malen, dat ik op de bovenbeschreven wijze *B. subtilis* uit aarde geïsoleerd heb, kwam steeds dezelfde vorm voor den dag: variabiliteit was er tusschen de verkregen culturen uitwendig niet te zien. Wel bleek het, dat zij alle, bij voortgezette cultuur op kunstmatigen voedingsbodem, op dezelfde wijze aan het varieeren gingen.

Wanneer men n.l. van een colonie een streepcultuur aanlegt op moutagar ¹⁾ dan ziet men gewoonlijk reeds na een dag of twee, drie uit de melkwitte of dof-gele, ondoorzichtige cultuurstreep op bepaalde punten helder-doorzichtige uitgroeiingen ontstaan, die sneller groeien dan de omgeving en dus weldra als doorzichtige sectoren buiten de eigenlijke streepcultuur zijn uitgegroeid. Het materiaal, waaruit deze gedeelten bestaan, bleek sporenvrij te zijn, in tegenstelling met de ondoorzichtige omgeving, die na eenige dagen cultuur grootendeels uit sporen bestaat. Overenting met materiaal uit die sectoren leverde culturen, die sporenvrij bleven en zoo laat zich op deze wijze gemakkelijk de »asporogene variant« van *B. subtilis* isoleeren. ²⁾ Deze variant schijnt volkomen sporenvrij, wanneer men mikroskopisch nagaat of er ook sporen te vinden

¹⁾ Moutagar is voor de beide soorten een uitstekende voedingsbodem. Wij bereiden haar volgens het volgende recept. Ongehopte wort wordt verdund met water, totdat de saccharometer van Brix 10 aanwijst; 0,1 pCt asparagine en 0,15 pCt pepton wordt toegevoegd en in het aldus verkregen »moutextract« 1,5 pCt agar opgelost.

²⁾ Zie over variabiliteit bij mikroben : Beyerinck. Versl. Kon. Acad. Wetensch. Amsterdam, 27 Oct. 1900 (ref. Centr. f. Bakt. 2e Abth VII pag. 363).

zijn; ook in oude culturen gelukt het niet die te ontdekken. Toch blijkt op andere wijze, dat een enkele maal een atavist ontstaat, die weer het vermogen heeft om sporen te vormen. Kookt men n.l. een dikke klodder materiaal van een 6 of 7 dagen oude mout- of vleeschagarcultuur in wat steriel water even op en zaait al dit materiaal op moutagar of op gesterilizeerden aardappel uit, dan komen er niet zelden eenige weinige colonies op, die weer tot den oorspronkelijken sporogenen vorm blijken te behooren. Het vermogen om sporen te vormen is bij den asporogenen variant dus niet geheel verloren gegaan.

Infectieproeven.

Met reinculturen van de beide vormen van *B. subtilis* werden infectieproeven verricht op verschillende plantendeelen.

De eerste reeks vond plaats op schijven van verschillende knollen en zaden, welke geplaatst werden in Petri-schalen, op den bodem waarvan een vochtig stukje filtreerpapier gelegd was. Eenige moeite leverde het aanvankelijk de plantendeelen grondig te sterilizeeren zonder hen te beschadigen. Vooral de aardappel is aan zijn oppervlakte bezet met zeer resistente mikroben (o. a. *B. vulgaris*), die zich moeilijk verwijderen lieten.

Zeer gunstige resultaten werden echter verkregen door de plantendeelen eerst met zeep onder de kraan der waterleiding flink schoon te borstelen, vervolgens te schillen met een schoon mes en daarna gedurende een paar minuten in een 2‰ sublimaat-oplossing te leggen en met steriel water goed af te

spoelen. De planten leden van deze behandeling in het geheel niet; door het zeer langzame indringen van de sublimaat werden hoogstens een paar cellagen aan de oppervlakte gedood en zelfs bij een lang verblijf in de oplossing (een uur b.v.) strekt zich de sterfte slechts tot op één of een paar m. M. onder de oppervlakte uit (geheel anders werken zuren, b.v. een oplossing van zoutzuur, die veel sneller indringen en binnen korten tijd een groot deel van het plantenweefsel verwoesten, terwijl zij minder snel de bakteriën dooden). De gesterilizeerde plantendeelen werden met een geflambeerd en daarna afgekoeld mes in schijven gesneden en op deze werd een dunne streep bakteriën materiaal getrokken.

Bij 37° werden de meeste der onderzocht plantendeelen tot rotting gebracht; na 24 uur waren de schijven topinambour, aardappel, selderijknol, peen, winterwortel, meiraap, koolraap, hazelnoot, witloof zeer sterk aangetast; zwak aangetast was de kastanje en volkomen resistent bleek de peterseliewortel te zijn. Bij lagere temperatuur trad de rotting minder algemeen op; bij 28° werden de aardappel-, topinambour-, meiraap-, en selderijknol-schijven in 24 uur door een streepinfectie nog sterk aan het rotten gebracht, de koolraap, winterwortel, hazelnoot, het witloof en de kastanje werden nog slechts zwak aangetast, en bij 23° waren het alleen de aardappel en de topinambour die door de opgebrachte streep ondiep waren uitgevreten. Het meeste resultaat hebben deze proeven, wanneer men de plan-

tendeelen onmiddellijk vóór de infectie in schijven snijdt. Heeft men hen gelegenheid gegeven een kurkhuidje te vormen, dan is de werking der bakteriën dikwijls belet; aardappelschijven echter worden nog aangestast twee dagen nadat zij gesneden zijn.

Ook enkele infecties werden verricht aan aardappel, topinambour en meiraap, waarbij deze knollen intact werden gelaten en alleen met zeep goed schoongeborsteld onder de kraan der waterleiding, vervolgens ongeveer een kwartier in 2 % sublimaat gelegd en daarna met gesteriliseerd water afgespoeld. Met een geflammeerd smal kurkeboortje werd daarna een kleine holte in den knol geboord en hierin wat materiaal van *B. subtilis* gebracht. Bij 87° rotten de geïnfecteerde aardappel en topinambour snel weg: na een dag of vijf was gewoonlijk de geheele knol tot een zwarte stinkende massa geworden; bij de meiraap schreed de rotting wat minder snel voort. Bij 30° was de werking niet zoo sterk: de meiraap ging bij deze temperatuur niet meer geheel in rotting over, de aardappelen topinambour wel, doch eerst na een week of nog langer. Bij 23° eindelijk waren deze infecties ook op aardappel en topinambour zonder uitwerking.

De vegetatieve variant en de sporogene vorm toonden zich in hun werkzaamheid aanvankelijk volkomen gelijk. Toen echter deze twee vormen gedurende een maand of drie in cultuur waren gehouden op moutagar, was bij beide een sterke vermindering der virulentie te bespeuren. De topinambour werd zelfs bij 37° in het geheel niet meer

aangetast. De vegetatieve variant was het sterkst verzwakt; de versch gesneden aardappelschijven werden door deze nauwelijks meer tot rotting gebracht, en op de schijven, welke men een dag had laten liggen, vóórdat zij geïnfecteerd werden en die dus van een dun kurkhuidje voorzien waren, was de werking geheel nul. Bij den sporogenen vorm was het verlies der virulentie minder ver gegaan, maar ook hier was bij 37° geen werking op de topinambour meer te bespeuren; de aardappel werd daarentegen nog steeds sterk aangetast.

LAURENT ¹⁾ heeft er reeds op gewezen, dat ter herstelling der virulentie bij plantenpathogene bacteriën dezelfde methode doeltreffend is, welke ook bij de menschelijk-pathogen veel gebruikt wordt, n.l. overenting van uit de organismen, die nog door de verzwakte bacterie worden aangetast. Dit middel had ook voor *B. subtilis* het gewenschte gevolg. Door het ongeveer drie maanden oude, verzwakte materiaal werden alleen de aardappelschijven nog aangetast en tot rotting gebracht; het materiaal nu, dat uit deze rottende aardappelschijven gewonnen werd, bleek weer de volle virulentie verkregen te hebben, en dit gold zoowel voor den sporogenen vorm als voor den vegetieven variant.

Verloop van het rottingsproces.

De door *B. subtilis* aangetaste aardappel en topinambour nemen een donkerbruine of zwarte kleur aan en verspreiden een karakteristieken stank, waarin de

¹⁾ l. c.

reuk van trimethylamine en die van ammoniak op den voorgrond treden. De zwarte verkleuring berust niet rechtstreeks op de werking der bakterie, het is een verschijnsel, dat bij den aardappel en den topinambour steeds optreedt, wanneer deze knollen sterven onder omstandigheden, waarbij hun enzymen niet vernietigd worden. Doodt men b.v. een stuk aardappel door het een kwartier of een half uur in water van 55° te laten liggen, of door een voorzichtig uitgesneden stukje in steriel water te werpen en daar te laten verstikken, of ook door gedurende eenigen tijd chloroformdampen te laten inwerken, dan treedt eerst een roode, daarna een donkere kleur op. Werpt men daarentegen een stuk aardappel in kokend water, dan vindt, zooals iedereen weet, geen verkleuring plaats, de aardappel behoudt dan haar witte kleur. Het was dus te vermoeden dat deze verkleuring berustte op de werking van een stof, die door kookhitte gedood werd, op de werking van een enzym, en wel van een oxydase, want ook bij volkomen zuurstofonttrekking (b.v. bij de anaërobe rotting, waar o. a. het boterzuurferment optreedt) blijft de aardappel ongekleurd. Het werkzame enzym nu is hier de tyrosinase en de zwarte kleur ontstaat door oxydatie der tyrosine ¹⁾. Ook wanneer

¹⁾ Dit laat zich op de volgende wijze aantoonen: wanneer men een aardappel onder alcohol, die men telkens ververscht, fijnwrijft, wordt met den alcohol de hierin een weinig oplosbare tyrosine verwijderd, terwijl de tyrosinase neerslaat. Op deze wijze verkrijgt men een wit poeder, dat de tyrosinase bevat; toevoeging van water doet geen verkleuring optreden, doch deze vertoont zich spoedig, wanneer men een zwakke oplossing van tyrosine toevoegt; dan ontstaat de roode kleur, die spoedig in een zwarte overgaat.

men aardappelen in een mortier fijnwrijft, ziet men eerst een roode kleur ontstaan, die weldra overgaat in een donkere en door toevoeging van alcali kan de donkere verkleuring nog versterkt worden. Dat bij de door *B. subtilis* veroorzaakte rotting de zwarte kleur zoo intens is, zal dan ook wel voor een deel moeten toegeschreven worden aan het geproduceerde alcali, dat vrij groot is: sap van de verrotte aardappels gaven een titer van — 3.3 % n.

Onderzoekt men een weefsel, dat door *B. subtilis* aan het rotten is gebracht, dan blijkt het, dat door de bakteriën op vrij verren afstand een doodende werking wordt uitgeoefend: het eerste stadium der rotting bestaat in een afsterven der protoplasten en op de voet wordt dit gevolgd door een losraken der cellen; de middenlamel wordt opgelost, waarschijnlijk door een door de bakteriën geproduceerde pectinase. In een rottenden aardappel is dit goed waar te nemen, wanneer men het gedeelte onderzoekt, dat het laatst is aangetast, dus het verst van de plaats van infectie verwijderd is. Dan blijkt tevens dat de parasieten zelf nog niet op die plaats aanwezig zijn. Deze verschijnen eerst later om zich te voeden met de stoffen, die uit de doode cellen door den wand heen diffundeeren. Zij dringen n.l. niet in de cellen; de cellulose wordt niet aangetast.

De verkleuring treedt echter niet in, wanneer men een deel van het witte poeder eerst met wat water gemengd en dit mengsel even op 100° verhit heeft en daarna de tyrosine toevoegt.

De verkleuring komt dus tot stand door de samenwerking van drie stoffen, 1°. een stof, die door kookhitte vernietigd wordt, 2°. tyrosine, 3°. zuurstof.

Aanvankelijk blijft ook het zetmeel intact; later wordt dit echter aangegrepen en de zetmeelkorrels gaan dan langzaam over in een vormlooze massa.

Uit dit verloop van het proces laat zich reeds afleiden, dat door de bacteriën een snel diffundeerende stof wordt afgescheiden, die als een zwaar vergift op het plantenweefsel werkt. Het bleek dat dit ook werkelijk het geval is.

Toxine.

Om na te gaan, of een dergelijke stof aan te toonen was, werden aardappelen, die geheel in rotting waren overgegaan, uitgeperst en het verkregen sap door de bougie-filter gezogen. Dit filtraat bleek zeer toxisch te zijn voor den aardappel: een druppel, op een aardappelschijf gebracht, had na 24 uur bij 37° een groot stuk weefsel gedood en in een donker gekleurde brei doen overgaan. Die doodende werking bleek echter geheel verdwenen te zijn, nadat het filtraat verhit was, totdat het even kookte. Ten einde nog zeker te zijn, dat niet het geproduceerde alcali hier als vergift gewerkt had, werd nagegaan, of een oplossing van ammoniumcarbonaat van gelijken titer als het aardappelsap (— 3.3 % n.) doodend werkte op het aardappelweefsel; dit bleek echter niet het geval te zijn. Trouwens door neutralisatie met zoutzuur bleek het bougiefiltraat haar toxische eigenschappen ook niet te verliezen; wel schijnt het, alsof de werking minder intens is, doordat de zwartkleuring van het doode weefsel minder sterk is, doch die verkleuring heeft feitelijk niets te maken met de toxische werking, die door het neutraliseeren

niet verminderd was. Toevoeging van alcohol in de verhouding 2:1 deed een dik neerslag ontstaan, dat door voorzichtig afschenken der bovenstaande vloeistof en daarna voorzichtige droging in den thermostaat tot een droog poeder kon gewreven worden ¹⁾. Ook dit poeder werkt zeer toxisch; een zeer geringe hoeveelheid deed binnen 24 uur een groot stuk weefsel afsterven.

B. subtilis produceert dus een echte toxine, die door verhitting tot 100° vernietigd en door alcohol neergeslagen wordt. De werking van de toxine is afhankelijk van de temperatuur; bij 30° is de werking minder sterk dan bij 37°; en bij 23° is zij nauwelijks meer waarneembaar.

Nog op andere wijze kon aangetoond worden, dat door de bacterie een vergift geproduceerd wordt: de omslachtige weg van het filtreeren door een bougie werd hierbij vermeden, door de bakterieele excreten te laten diffundeeren door de agar, waarop de cultuur plaats vond. Op moutagar, uitgegoten in niet te dikke laag in een Petri-schaal, werden n.l. korte cultuurstrepen getrokken en na 24 uur cultuur bij 37° werden de stukjes agar, met de streep-culturen er op, uitgesneden en in hun geheel op versche, steriele aardappelschijven gelegd, die weer in den thermostaat van 37° geplaatst werden.

Na een dag was de werking zichtbaar. Juist onder

¹⁾ Bij deze bewerking dient natuurlijk zorg gedragen te worden, dat volkomen steriel gewerkt wordt. Licht vallen anders sporen van *B. subtilis* of *B. vulgatus* in het poeder en doen dan later op de plantendeelen een vegetatie ontstaan, die maakt, dat al het werk weer moet overgedaan worden.

de cultuurstreep was een oppervlakkige laag van het aardappelweefsel gedood en in een zwarte brei overgegaan: de door *B. subtilis* op moutagar geproduceerde toxine was dus door de agar heen gediffundeerd en had haar werking op den aardappel uitgeoefend. Deze methode geeft ons tevens een gemakkelijk middel aan de hand om na te gaan, bij welke voedingscondities door een virulente bakterie haar toxine geproduceerd wordt: in de 1½ % agar worden de te onderzoeken voedingsstoffen opgelost, op dezen cultuurbodem worden korte strepen getrokken van de te onderzoeken bakterie en na 24 uur worden de stukjes agar met de cultuur op het plantendeel gelegd. Zoo onderzocht ik de toxineproductie van *B. subtilis*, gecultiveerd op moutagar, op vleeschagar en op duinwater + 0.025 % K_2HPO_4 + 1.5 % agar, waaraan resp. was toegevoegd: 3 % saccharose + 1 % pepton, 3 % saccharose + 0.25 % asparagine, 3 % saccharose + 0.1 % ammonium sulfaat en 3 % saccharose + 0.1 % kalisalpeter. Op al deze voedingsbodems was de groei zeer weelderig, doch de toxische werking bleek zeer verschillend: van de culturen op saccharose-ammoniumsulfaat- en saccharose-kalisalpeter-agar was geen toxische werking te bespeuren, terwijl deze bij de culturen op moutagar en vleeschagar zeer sterk, bij die op saccharose-pepton-agar minder sterk, bij die op saccharose-asparagine-agar nog zwakker, ofschoon toch nog zeer duidelijk waarneembaar, was.

§ 3. *Bacillus vulgatus* als rottingsparasiet.

Optreden der bakterie.

In § 1 is uiteengezet, onder welke condities deze bakterie bij de infecties met aarde zich vertoont als oorzaak van rotting. Zeer veel verschillende planten blijken bij 42 ° door infectie met aarde over te gaan in rotting, waarvan *B. vulgatus* de oorzaak is. De temperatuur, waarbij deze soort als rottingsparasiet optreedt, ligt dus wat hooger dan die van *B. subtilis*, wat, naar ik meen, samenhangt met het feit, dat de optimum temperatuur voor den groei bij *B. vulgatus* hooger ligt; ik schat die op ongeveer 45°, terwijl die van *B. subtilis* meer in de buurt van 40° schijnt te liggen. In alle geval ligt bij beide het optimum van groei veel hooger dan gewoonlijk opgegeven wordt en deze beide soorten staan in dit opzicht niet heel ver van de echte thermophile bakteriën af.

Op de verschillende planten treedt na aardinfectie deze bakterie ongeveer op dezelfde wijze op: slijmerige plekken zijn na 24 uur bij 42 ° zichtbaar, soms reeds van vrij groote uitgestrektheid; terwijl het daaronder liggend weefsel week is geworden; bij nog hoogere temperatuur (45 °) is er in die plekken vaak een roode kleurstof waar te nemen. Bij lagere temperatuur (37 °) is het voorkomen soms eenigszins anders: op met aarde besmette aardappelen vertoonen zich somtijds na 24 uur kleine, bijna kogelronde, witte bolletjes, die zeer taai-slijmerig zijn; het aardappelweefsel is onder die plekjes gewoonlijk slechts weinig aangetast.

Ook hier is het dikwijls reeds voldoende de niet-gereinigde plantendeelen in schijven te snijden om na een dag verblijf bij de genoemde temperaturen de vulgatusrotting te zien optreden. *B. vulgatus* behoort n.l. tot de zeer algemeen verspreide grondbakteriën.

Variabiliteit.

Onder de verschillende culturen, die verkregen waren door overenting van materiaal uit de rottende plekken, ontstaan na de infecties met aarde op verschillende plantendeelen, heerschte, wat het uiterlijk voorkomen betreft, niet altijd groote overeenstemming: sommige culturen op moutagar hadden een droog en korrelig, andere meer een vetzig, glimmend voorkomen, en zoo waren nog andere verschillen merkbaar, die alle constant bleken te zijn en steeds na overenting weer voor den dag kwamen. Toch waren deze verschillen niet zoo groot, of al de vormen moesten tot *Bacillus vulgatus* (Flügge) Mig. gerekend worden en alle kwamen ook in dit opzicht overeen, dat op mout-extract + 10% glucose (de hooibakteriën verdragen een zeer hoog suiker-percentages) de karakteristieke dikke, geplooidde huid gevormd werd (*B. subtilis* vormthierop geen of zeer teer huidje) en op gekookten aardappel de eveneens dikke, geplooidde laag ontstond. Eenige standvastigheid kon in het optreden der verschillende vormen niet waargenomen worden.

Infectieproeven.

Ook met *B. vulgatus* werden infectieproeven verricht op steriele schijven van verschillende plan-

tendeelen in Petri-schalen. Ook hierbij bleek het, dat de parasitische werking van deze bakterie bij hoogere temperaturen plaats vindt dan die van *B. subtilis*.

Bij 37° worden de plantendeelen sterk aangetast; 24 uur nadat de strepen getrokken zijn, zijn zij sterk aan het rotten (onderzocht werden: aardappel, winterwortel, peen, radijs, rammenas, bloemkool, koolraap, meiraap, selderijknol, peterseliewortel, kom'kommer, hazelnoot, kastanje); toch schijnt de voortgang der rotting iets minder snel te zijn dan bij *B. subtilis*.

Bij 30° is de werkzaamheid aanmerkelijk verminderd; de aardappel werd nog vrij sterk aangetast, de bloemkool en de rammenas zeer zwak, alle overige niet of nauwelijks.

Bij 23° was ook op den aardappel, de bloemkool en de rammenas geen inwerking te bespeuren.

Terwijl dus bij *B. subtilis* de temperatuur van ongeveer 23° als het minimum voor de parasitische werkzaamheid moest beschouwd worden, ligt voor *B. vulgatus* deze minimum-temperatuur ongeveer bij 30°; terwijl de temperatuur, waarbij de infecties met aarde resultaten hebben en welke bij *B. subtilis* bij 37° ligt, bij *B. vulgatus* eigenlijk pas bij 42° gelegen is (zie § 1).

Wondinfecties aan den overigens intacten knol werden alleen verricht op den aardappel. Niet zoo spoedig als bij *B. subtilis* is hier de geheele aardappel bij 37° tot rotting gebracht; toch is dit gewoonlijk

in zeven à acht dagen ook hier voltooid. Bij 30° waren de aardappels door een dergelijke infectie niet geheel tot rotting te brengen: deze bleef zich bepalen tot de onmiddellijke omgeving van de plaats van infectie.

Na een paar maanden cultuur op moutagar was ook bij *B. vulgaris* een zeer merkbare vermindering der virulentie waar te nemen: bij 37° waren de koolraap, winterwortel, peen, selderijknol en peterseliewortel in het geheel niet meer tot rotting te brengen, terwijl de meiraap zwak en alleen de aardappel en de hazelnoot nog vrij sterk werden aangetast.

Het bakteriën-materiaal, dat uit deze verrotte aardappel- en hazelnootschijven werd geïsoleerd, bleek de oorspronkelijke virulentie weer volkomen teruggekregen te hebben,⁹ zoodat ook hier dezelfde methode als die, welke bij *B. subtilis* toegepast werd, doeltreffend bleek om aan verzwakt bakteriën-materiaal weer de oorspronkelijke virulentie terug te geven.

Verloop van het rottingsproces.

Dit is geheel hetzelfde als bij *B. subtilis*. De aardappel ondergaat echter een minder sterke zwartkleuring; de kleur is hier meer een grijs-bruine.

De rottende plantendeelen verspreiden een eenigszins anderen geur dan bij *B. subtilis*.

Toxine.

Ook hier werd nagegaan, of door de bakterie een toxine werd afgescheiden. Het sap van door *B. vulgaris* tot rotting gebrachte aardappelen werd door

een bougiefilter geperst en in het filtraat liet zich, evenals bij *B. subtilis*, een toxine aantoonen, die door koken vernietigd en door alcohol neergeslagen wordt. Ook bij cultuur in moutextract wordt de toxine geproduceerd.

Op de reeds beschreven wijze (zie vorige §) werd nagegaan, onder welke voedingscondities die productie plaats vond. De uitkomsten waren anders dan bij *B. subtilis*. Op alle hierop onderzochte voedingsbodems bleek n.l. de toxineproductie nage-noeg even sterk te zijn. Onderzocht werden evenals bij *B. subtilis* moutagar, vleeschagar, saccharose-pepton-agar, saccharose-asparagine-agar, saccharose-kalinitraat-agar en saccharose-ammoniumsulfaat-agar.

§ 4. Conclusie.

Uit het voorafgaande, blijkt dat *Bacillus subtilis* en *Bacillus vulgatus* onder bepaalde omstandigheden virulent zijn voor vele plantendeelen. De voornaamste van deze omstandigheden is een hooge temperatuur: alleen boven 23° komen de virulente eigenschappen van *B. subtilis*, boven 30° die van *B. vulgatus* voor den dag. Hieruit volgt, dat het zeer onwaarschijnlijk is, dat in ons klimaat een van deze bacteriën ooit, hetzij op het veld, hetzij op de bewaarplaatsen als plantenparasiet zal optreden en plantendeelen tot rotting zal brengen. Het is echter niet onmogelijk, dat dit in andere streken met warmer klimaat het geval kan zijn.

HOOFDSTUK II.

**Rottingsziekte van *Iris florentina* en *Iris germanica*,
veroorzaakt door *Pseudomonas Iridis* nov. spec.
en *Bacillus omnivorus* nov. spec.**

Ziektesymptomen.

In het voorjaar doet zich in sommige kweekerijen telken jare het verschijnsel voor, dat sommige der jonge spruiten van *Iris florentina* en *Iris germanica* in groei bij de overige achterblijven; de bladeren beginnen gele en weldra verdroogde toppen te krijgen, en de geheele spruit sterft in korten tijd af. Dit proces heeft gewoonlijk een zeer snel verloop. Onderzoekt men de onderaardsche deelen, dan blijkt het, dat de bladvoeten en het bijbehorende éénjarige deel van den wortelstok geheel in rotting is overgegaan en een weeke, breiachtige, geel- of bruin-gekleurde massa geworden is, die echter geen stank verspreidt; in dit eerste stadium is het een reukeloos „nat rot”. In den loop van den zomer strekt zich de rotting dikwijls niet verder over den wortelstok uit; de ziekte blijft dan beperkt tot den eerst-aangetasten scheut. Maar somtijds gaat zij over op de oudere deelen van den wortelstok en van hieruit op de overige scheuten. Dan sterft de geheele pol af en van de onderaardsche deelen blijft niets anders

over dan een meelachtige brei, waar de intacte kurkhuid van den wortelstok als een losse huid omheen ligt. Het uitwendig voorkomen van de rotting is dan vaak eenigszins gewijzigd: de massa heeft gewoonlijk een helderwitte kleur en verspreidt een muffen rottingsstank.

Bakterieele toestand.

Omstreeks eind Mei van het vorige jaar (1901) was ik in de gelegenheid te Sassenheim deze ziekte in de Irisvelden na te gaan en een aantal planten te verzamelen, die eerst sedert kort waren aangetast en in het eerste ziekte-stadium verkeerden. Het rottende deel van de wortelstokken en bladbasissen bevatte nooit fungi maar wemelde van bakteriën, die blijkens de colonie- en streepculturen alle tot dezelfde soort behoorden. De infectieproeven met deze bacterie genomen, brachten aan het licht, dat wij te doen hadden met een zeer virulente soort, die de oorzaak der ziekte was; zij ontving den naam *Pseudomonas Iridis*. Door verschillende omstandigheden moesten de proeven met deze bacterie gedurende de maand Juli gestaakt worden; toen ik echter einde Juli die proeven wilde voortzetten, bleek het, dat de virulentie geheel verloren was gegaan, tengevolge van den ongeveer 8 weken langen cultuur op kunstmatigen voedingsbodem. Opnieuw werd toen te Sassenheim materiaal verzameld van zieke planten, doch het bleek, dat het meerendeel van deze in vergevorderd ziekte-stadium verkeerden; de wortelstokken vertoonden de hierboven genoemde stinkende rotting

en het bakteriologisch onderzoek toonde aan, dat zij thans bewoond waren door een groot aantal verschillende bakteriesoorten, waarvan althans de groote meerderheid geen toxische eigenschappen bezat en de oorspronkelijk aanwezige parasiet was zoozeer verdrongen door deze secundaire saprophyten, dat het mij niet mogelijk was hem opnieuw te isoleeren. Ik had echter het geluk nog één enkele spruit te vinden, die eerst sedert kort scheen aangetast te zijn; de bladeren waren nog niet geheel afgestorven en de rotting had het jongste gedeelte van den wortelstok nog slechts partieel verwoest. Mijn verwachting was dan ook, hieruit opnieuw den *Pseudomonas Iridis* te kunnen isoleeren; maar het bakteriologisch onderzoek had geheel andere resultaten. Wèl bleek ook hier de bakteriënflora slechts uit één soort te bestaan, maar die soort was een geheel andere dan de eerstgevondene; zij ontving den naam *Bacillus omnivorus* wegens de weinige kieskeurigheid, die zij vertoonde ten opzichte van de voedsterplanten, welke zij in staat was tot rotting te brengen. De uitwendige ziektesymptomen, door deze bacterie aan de Iris-planten teweeggebracht, zijn volkomen gelijk aan die, welke zich voordoen, wanneer *Pseudomonas Iridis* de parasiet is; het eenige verschil, dat ik kon opmerken is, dat de teweeggebrachte rotting met een zwakmuffen stank gepaard gaat, terwijl deze bij *Ps. Iridis* geheel ontbreekt en de rotting volkomen reukeloos verloopt.

Wij staan hier dus voor het feit, dat een rottingsziekte op hetzelfde terrein door twee verschillende

bakteriesoorten worden veroorzaakt. Bij de tot nu toe bestudeerde rottingen (zie Hoofdstuk II §§ 11 — 15) werd iets dergelijks nog niet waargenomen en scheen het steeds dezelfde bacterie te zijn, die als parasiet optrad. Toch is aan den eenen kant niets opvallends gelegen in de omstandigheid, dat twee parasieten soortgelijke ziektesymptomen veroorzaken, vooral niet wanneer die verschijnselen weinig karakteristiek zijn, zooals bij rottingsziekten; en evenmin zou het te verwonderen zijn, dat twee zulke parasieten op eenzelfde terrein aanwezig zijn; maar aan den anderen kant is toch nog een andere verklaring van het waargenomen feit denkbaar.

Uit LAURENT's onderzoekingen ¹⁾ scheen immers te volgen, dat verschillende saprophyten in staat zijn als parasieten op te treden, wanneer het weerstandsvermogen van de plant tegen bacterieele aanvallen zeer gering is geworden. Het zou mogelijk zijn, dat dit in ons geval had plaats gevonden, en de Irisplanten, b.v. door een eenzijdige en overdreven stikstofbemesting, zeer vatbaar voor aantasting door bacteriën waren geworden, zoodat eenige, gewoonlijk onschuldige, soorten in de gelegenheid waren gesteld als parasieten op te treden. Hoe grooter het aantal virulente soorten is, dat bij een rottingsziekte werkzaam is, des te meer zal men geneigd zijn deze laatste verklaring als de meest plausibele te beschouwen en het is dan ook aangewezen om in

¹⁾ Ann. Inst. Pasteur décembre 1898.

volgende jaren, wanneer deze ziekte zich weer mocht vertoonen, nogmaals na te gaan, welke parasieten er bij optreden.

Infectieproeven.

1^o. met *Pseudomonas Iridis*.

De virulentie van een bakterie laat zich zeer goed onderzoeken aan versch gesneden schijven van verschillende plantendeelen, waar men het materiaal in een dunne streep opbrengt. Zulke schijven, b.v. van aardappels, uien, tomaten, enz., of ook dwars-doorgesneden stengels van verschillende planten, blijven dagen lang gezond in Petri-schalen, waarin men op den bodem een streepje steriel filtreerpapier gelegd heeft, dat men met steriel water vochtig houdt. Werkt men accuraat, dan is het zelfs onnoodig het filtreerpapier en het water te steriliseeren; natuurlijk dient gezorgd te worden, dat slechts geringe bevochtiging plaats vindt en niet een plas op den bodem van de schaal drijft. Op deze wijze zijn voor rottingsparasieten gunstige condities aanwezig om hun werkzaamheid uit te oefenen, terwijl aan de plantendeelen wel een groote wondvlakte is aangebracht, maar zij overigens in normale omstandigheden verkeeren, zoodat saprophyten niet den minsten vat op hen hebben.

Dit blijkt wanneer men van verschillende saprophytische bakteriën groote kwantiteiten levenskrachtig materiaal op verse schijven van aardappelen of andere plantendeelen brengt; deze lijden daardoor n.l. in 't geheel niet. Indien de infectie van schijven

positieve resultaten heeft, moet het onderzoek met plantendeelen in toto worden voortgezet, waarbij het bakteriën materiaal in een kleine steekwond wordt gebracht; waren de schijven echter niet tot rotting te brengen, dan mag men veilig concludeeren, dat het plantendeel ook niet vatbaar is voor de bacterie als rottingsparasiet.

Ook hier (zie vorig Hoofdstuk) werden de plantendeelen eerst degelijk afgeborsteld onder de waterleiding, daarna eenige minuten in sublimaat van 2 % gelegd, en ten slotte met gesteriliseerd water terdege afgespoeld. Schadelijke werking van het sublimaat was aan de planten nooit te bespeuren; deze stof dringt slechts uiterst langzaam in levende plantendeelen in, maar sterilizeert de oppervlakte volkomen. Daarna werden zij met een steriel mes (geflambeerd en afgekoeld) in schijven gesneden. Door deze behandeling heb ik niet een enkele maal verontreiniging gehad van saprophyten in de rottende plantendeelen. Steeds leverde bij onderzoek het geïnfecteerde materiaal weer reïnculturen van den parasiet op.

De eerste reeks infectieproeven met *Pseudomonas Iridis* vond plaats in Petri-schalen op versch gesneden schijfjes wortelstok en op bladeren, die van de opperhuid ontdaan waren, van *Iris florentina*. Het meest vatbare deel van de plant bleek de basis der jonge bladeren te zijn, maar ook de basis der oudere bladeren en het bijbehorende éénjarige deel van den wortelstok vertoonden een zeer geringen weerstand tegen *P. Iridis*. Een zeer

gering quantum bakteriën materiaal had schijven van deze deelen reeds na 24 uur bij kamertemperatuur ($17-20^{\circ}$) geheel in rotting doen overgaan; de oudere, twee- en meerjarige, deelen van den wortelstok waren minder vatbaar en een grootere hoeveelheid materiaal was vereischt om deze bij dezelfde temperatuur tot rotting te brengen; bij hoogere temperatuur (in den thermostaat van 25°) was echter ook hier de bakteriënwerking een zeer intense.

De infectieproeven met de intacte planten werden steeds zoo verricht, dat een geringe hoeveelheid materiaal met de platinaald in een kleine wond aan den voet der bladeren gebracht werd. Na een dag of drie was de rotting in den omtrek der infectieplaats reeds zeer ver gevorderd en na een dag of vijf, zes was steeds het jongste deel van den wortelstok met de bijbehorende bladvoeten geheel in een weeke brij overgegaan ($17-20^{\circ}$). Experimenteert men bij hoogere temperatuur (25°), dan is het verloop nog sneller.

Deze proeven werden verricht aan materiaal, afkomstig van het besmette veld zelf. Toen ik de proeven herhaalde met Irisplanten gegroeid in een tuin te Amsterdam, bleek het, hoezeer de vatbaarheid van dezelfde plantensoort onder verschillende omstandigheden kan verschillen, want deze planten toonden een veel grootere resistentie. Infecties van wonden had ook hier wel dikwijls algeheele rotting ten gevolge, maar somtijds bleef deze ook uit en altijd was het verloop langzamer; de schijfinfectie echter had ook hier altijd zeer positieve resultaten.

Met enkele andere planten werden nog proeven genomen, maar geen bleek zoo vatbaar te zijn als de Iris, ofschoon bloemkool eveneens zeer gemakkelijk tot rotting werd gebracht. Minder vatbaar bleken: peentjes, komkommers, koolrapen (*Brassica Napus rapifera*), die bij wondinfecties alleen bij hoogere temperatuur (25°) geheel in rotting overgingen; bij kamertemperatuur ($17-20^{\circ}$) leverde alleen de infectie van schijven positieve resultaten. Nog moeilijker aan te tasten was de ui, waarvan alleen de jonge deelen aan het rotten gebracht werden; de oudere schubben waren volkomen resistent. Van alle planten bleken de aardappel en de tomaat de geringste vatbaarheid te bezitten; alleen bij hooge temperatuur vertoonden deze geringe rottingssymptomen.

Het resultaat van deze proeven schijnt ons, dat *Ps. Iridis* op het veld wel voor geen van deze planten als parasiet gevaar zal opleveren.

20. Infectieproeven met *Bacillus omnivorus*.

Ten opzichte van de Iris-plant gedroeg deze bacterie zich geheel als de vorige: de jonge deelen van den wortelstok en de basis der bladeren vertoonden ook voor dezen parasiet de grootste vatbaarheid. Misschien echter is de werking van deze mikrobe hier iets minder krachtig dan die van *Ps. Iridis*. Het verloop is n.l. iets minder snel. Bij de infecties van verschillende andere planten bleek het, dat bijna alle voor dezen parasiet in meerdere of mindere mate gevoelig waren, reden waarom ik hem den naam *Bacillus omnivorus* gaf.

Niet minder sterk dan de Iris werden aangetast: jonge radijs, jonge peentjes, jonge scheuten van ui, witloof, bloemkool. Al deze planten vertoonden na steek-infectie met de entnaald na twee dagen bij kamertemperatuur zeer sterke rottingen, en waren gewoonlijk na een viertal dagen geheel in een weeke pap overgegaan, waaruit steeds weer *B. omnivorus* in reïncultuur voor den dag kwam. De oppervlakte-desinfectie geschiedde ook hier zooals hierboven beschreven is; bij het witloof en de uienspruiten ging dit natuurlijk niet, bij de laatstgenoemde vertoonden zich des ondanks nooit bijkomende saprophyten, bij het witloof geschiedde dit een enkele maal.

De bloemkool nam bij deze rotting een zwarte kleur aan. Van al deze planten is de gevoeligheid voor de bacterie niet minder dan die van de Iris; de leeftijd der planten schijnt echter een groote rol te spelen, oudere organen waren steeds veel resistenter. Minder gemakkelijk aan te tasten waren: meiraap, koolraap, rammenas en aardappel. Bij kamertemperatuur hadden wel infecties van versch gesneden schijven ook hier reeds na 24 uur verregaande decompositie bewerkt, maar de steekinfecties bleven zonder resultaat en alleen bij hooge temperatuur (27°) hadden zij totale rotting der planten ten gevolge. De aardappel neemt hierbij een gele kleur aan. De vatbaarheid van groote paardewortelen staat ongeveer gelijk aan die van aardappelen, en is dus geringer dan die der peentjes, terwijl komkommers zeer moeilijk tot rotten te brengen waren, zelfs de schijfinfectie bij

27° had na 24 uur slechts vrij geringe resultaten. Geheel ongevoelig eindelijk bleken tomaten te zijn en jonge spruiten van pas uitgelopen aardappelen, die zelfs bij 27° geen rottingsverschijnselen vertoonden. Al deze rottingen gaan, in tegenstelling met de door Ps. Iridis veroorzaakte, gepaard met een walgelijken stank, die bij sommige planten (radijs, aardappel, wortel, bloemkool) zeer intens, bij andere (Iris) slechts zwak is.

Uit deze resultaten zou men wellicht af mogen leiden, dat *Bacillus omnivorus* op het veld, onder voor hem gunstige condities, misschien ook als parasiet van peentjes of radijs zou kunnen optreden en rottingsziekten in deze gewassen veroorzaken. Ik dien hier echter bij te voegen, dat naar mijn meening toch niet al te veel waarde voor de praktijk moet gehecht worden aan de uitkomsten dier kunstmatige infecties. De omstandigheden zijn op het veld geheel andere dan in laboratorium, proefkas of zelfs proefveld. De infecties vinden daar ook op andere wijze plaats dan bij de proeven. Maar vooral is de vatbaarheid van een plantensoort aan zoo groote variaties onderhevig, variaties, die, zooals ik reeds in het Eerste Hoofdstuk van het Eerste Gedeelte uiteenzette, deels door de cultuur verworven, deels aan variëteit of ras gebonden zijn. En zoo zou ik het ook niet onmogelijk achten, dat, terwijl de door mij onderzochte aardappels en rapen slechts geringe vatbaarheid ten opzichte van *B. omnivorus* vertoonen, er aardappel- of raapvariëteiten bestonden, die zeer gevoelig waren voor deze bakterie, terwijl er

omgekeerd condities aanwezig zouden kunnen zijn, die maakten, dat de gekweekte radijs of peen volkomen onvatbaar waren.

Pathologische anatomie.

De werkzaamheid dezer beide bakteriën, en vermoedelijk van alle rottingsbakteriën, op hun hospes bestaat in hoofdzaak in het doden van het plantenweefsel, het van elkaar isoleeren der cellen, en het verteren van den celinhoud. Deze is ook de volgorde der processen, zoo als zij in werkelijkheid plaats vindt. Immers als men een rottend plantendeel onderzoekt, dan is het gemakkelijk waar te nemen, dat het allereerste ziektesymptoom is het afsterven van eenige cellen, dat spoedig gevolgd wordt door de oplossing der middenlamel. Wanneer dit plaats vindt zijn de bakteriën zelf gewoonlijk nog niet in dit pas gedode weefsel doorgedrongen, zij verschijnen pas later; en zoo krijgt men den indruk, dat door de parasieten een doodende stof geproduceerd wordt, die snel door het plantenweefsel heen diffundeert, sneller dan de bakteriën zelve zich verspreiden. Tegelijkertijd met die doodende stof verspreidt zich een andere, die de middenlamel oplost en wier werking zich misschien iets later openbaart, hetzij dat haar diffusie iets trager plaats vindt of dat haar werkzaamheid een minder snelle is. In het aldus verweekte weefsel dringen dan de bakteriën door en voeden zich met de stoffen, die uit de doode protoplasten door den celwand heen diffundeeren. Noch *Ps. Iridis* noch *B. omnivorus* dringen in

de cellen; het beste is dit na te gaan, door van een rottend gedeelte, waarin de bakteriën zich sedert eenigen tijd bevinden, wat materiaal in veel water flink uit te wasschen (b.v. in een horlogeglas) en dan in eenige druppels hiervan de afzonderlijke cellen te onderzoeken.

Wordt dus naar het schijnt de cellulose niet aangetast, toch wordt de dikke secundaire wand der cellen van den Iris-wortelstok, door *B. omnivorus* althans, niet geheel intact gelaten. De vertering van den korreligen inhoud der doode cellen, die allengs geheel verdwijnt, gaat n.l. gepaard met een gedeeltelijke resorptie van dien wand, die haar sterk lichtbrekende eigenschappen verliest, een onregelmatig-gelaagd en streperig voorkomen aanneemt en allengs, naar het schijnt van binnen af, verteerd wordt en in dikte afneemt. Ten slotte blijft niet anders over dan een dun laagje, dat uit cellulose bestaat (met chloorzink-jodium de paarse kleur aanneemt) en waarbinnen een gering overblijfsel van den protoplast de onaangetaste zetmeelkorrels omgeeft. Of de gang van zaken bij *Ps. Indis* evenzoo is, kon ik nog niet uitmaken, daar de virulentie van deze bacterie verloren was gegaan, vóórdat ik deze zaak onderzocht had.

Toxine.

Of inderdaad door den parasiet een doodende stof geproduceerd wordt en, zoo ja, van welken aard deze is, werd om dezelfde reden ook alleen bij *B. omnivorus* nagegaan.

Zooals reeds vermeld werd, deed het mikroskopisch onderzoek der rottende plantendeelen reeds vermoeden, dat een dergelijke stof en wel een snel diffundeerende door *B. omnivorus* afgezonderd werd. Het nadere onderzoek bevestigde dit vermoeden. Gezonde aardappels, die, na geschild te zijn, door een verblijf van eenige minuten in sublimaat van 0.2 ‰ bevrijd waren van kiemen, die zich aan de oppervlakte mochten bevinden, en daarna flink in steriel water afgespoeld waren, werden geïnfecteerd met de bacterie en, toen zij na een verblijf van een dag of acht bij 27° geheel in rotting waren overgegaan, uitgeperst. Met het zoo verkregen sap werd verder geëxperimenteerd.

Allereerst werd het door een bougiefilter geperst en van het filtraat een druppel op versch gesneden aardappel- en bloemkoolschijven gebracht, die daarna in den thermostaat bij 27° gezet werden. Na 24 uur was er een toxische werking doch een zeer geringe te bespeuren: op de plaats, waar de druppel gebracht was geworden, bleek een dun laagje weefsel afgestorven en overgegaan te zijn in een weeke massa, die zich gemakkelijk verwijderen liet. Dezelfde proef werd herhaald, doch ditmaal na het bougiefiltraat verhit te hebben totdat het even begon te koken: thans bleek de vloeistof geheel werkeloos te zijn, het plantenweefsel was er in het geheel niet door aangetast. De proef werd herhaald; nogmaals werden eenige gezonde aardappels met *B. omnivorus* geïnfecteerd, eenige dagen later de verrotte massa uitgeperst, het sap door de bougie

gefiltreerd en de werking van het gekookte en ongekookte filtraat ditmaal op aardappel en koolraap onderzocht. De resultaten waren weer dezelfde; de niet verhitte vloeistof had een zwakke toxische werking uitgeoefend, de verhitte was werkeloos gebleven.

Scheen het dus bewezen, dat inderdaad door de bakterie een toxine werd geproduceerd, zoo was toch de zwakke werkzaamheid van het bougiefiltraat opvallend, daar de bakterie zelf zulk sterk toxische eigenschappen vertoonde, en het lag voor de hand te vermoeden, dat bij het filtreren de toxine grootendeels was achtergebleven. Ik beproefde daarom met een paar andere methoden de bakteriën zelf te doden, zonder hun toxine te vernietigen. Twee stoffen schenen mij hiervoor aangewezen: alcohol en chloroform.

Het precipiteeren van de toxine door middel van alcohol geschiedde op de volgende wijze. Aan het sap, geperst uit aardappelen, die door *B. omnivorus* geheel tot rotting waren gebracht, werd in wijde reageerbuizen alcohol (98 %) toegevoegd in de verhouding 2 : 1. Gedurende 1½—2½ uur liet ik het mengsel staan; in dien tijd verzamelde zich op den bodem een vlokkig precipitaat. Dan werd de heldere vloeistof voorzichtig afgeschonken en de alcohol die nog achter was gebleven door zachte verwarming op een waterbad uitgedreven (ik sloot aanvankelijk hierbij de buis met een zeer losse wattenprop af; deze maatregel kan echter gerust nagelaten worden, het drogen geschiedt dan sneller en indien er al een enkele saprophytische bakterie uit de lucht in de

buis mocht vallen, dan heeft dit toch op den gang van zaken geen storenden invloed). Wanneer zoover ingedampt was, dat het precipitaat een vrij dikke brij is geworden, werd het op versch gesneden aardappel- en bloemkoolschijven gebracht en op een bepaalde plek in dunne laag uitgespreid; de schijven werden dan in Petri-schalen, waarin een vochtig steriel filtreerpapier was gelegd, om uitdroging tegen te gaan, in den thermostaat bij 27° gezet. Volkomen dezelfde manipulatie werd toegepast op een deel van het uitgeperste sap, dat vooraf verhit was, tot dat het even begon te koken,

Na 24 uur waren de resultaten zeer overtuigend. Het precipitaat uit de niet gekookte vloeistof had zeer sterk op den aardappel, nog sterker op de bloemkool ingewerkt en had een belangrijke portie weefsel geheel in een weeke pap doen overgaan; het afgestorven weefsel van de bloemkool had hierbij een bruingele tint aangenomen, dat van den aardappel was lichter, geelachtig, van kleur geworden. In de gekookte vloeistof was de toxine geheel vernietigd; het precipitaat hiervan was geheel werkeloos gebleven.

Men kan ook een anderen weg inslaan en na de inwerking van den alcohol de vloeistof door steriel filterpapier filtreren en het filter daarna in den thermostaat bij 37° volkomen drogen. Het neerslag laat zich dan in harde brokjes van het filter verwijderen en met deze stukjes kan dan op dezelfde wijze te werk gegaan worden als met het door indampen gewonnen papje.

In alle gevallen, waarin een toxische werking plaats had gevonden, werd nagegaan, of er misschien toch een bakteriënvegetatie was opgetreden; hiertoe werden de aangetaste plantendeelen nog eens 24 uur in den thermostaat van 27° gelaten. Geen enkele maal waren echter bakteriën aanwezig en de $1\frac{1}{2}$ à $2\frac{1}{2}$ uur lange inwerking van den alcohol had dus alle individuen van *B. omnivorus* gedood.

Ook chloroform bewees goede diensten. Bij het uitgeperste vocht werd deze stof gevoegd in de verhouding van ongeveer 1 : 200, en er daarna doorheen geschud. Onmiddellijk daarop werd het geheel in dunne laag uitgegoten in een groote Petri-schaal (2 d.M. middellijn), die open in den thermostaat van 37° werd gezet; de chloroform verdampt dan spoedig. Na een halven dag (gedurende welken tijd de thermostaat gedurig eenige oogenblikken gelucht werd) werd de schaal met de vloeistof er uit genomen en deze in een dun laagje gebracht op versch gesneden aardappel- en bloemkoolschijven. Aldus werd gehandeld met ongekookt en met gekookt sap. De resultaten waren weer zooals zich verwachten liet: het ongekookte sap had vrij sterk ingewerkt, het gekookte was zonder uitwerking gebleven. Toch zijn de resultaten van deze proef niet zoo overtuigend als die van de proef met het alcoholisch precipitaat; blijkbaar is zelfs de korte inwerking van de chloroform toch nadeelig geweest voor de toxine. Een geheele vernietiging van de toxine treedt dan ook reeds vrij spoedig op, als men de chloroform langeren tijd laat inwerken. Wanneer ik de vloeistof met de

chloroform een kwartier lang in de buis liet en haar eerst dan in de Petri-schaal uitgoot, was gewoonlijk geen spoor van toxische werking meer te bespeuren.

Dezelfde proeven werden ook verricht met 7 dagen oude bouillonculturen van *B. omnivorus* en het bleek, dat in deze voedingsvloei-stof nagenoeg even sterke toxine-vorming plaats vindt als bij cultuur op levenden aardappel en dat ook hier het precipiteeren door alcohol de beste resultaten opleverde. Het persen door een bougie daarentegen gaf hier een product, dat zelfs alle toxische eigenschappen miste.

Om na te gaan, bij welke voedingscondities de bacterie haar toxine voortbrengt, werd denzelfden weg ingeslagen als bij *B. subtilis* (zie vorige Hoofdstuk). Korte streepculturen werden aangelegd op vleeschagar, moutagar, saccharose-pepton-agar ¹⁾ en saccharose-asparagine-agar ²⁾; na 24 uren verblijf in den thermostaat van 27° waren al deze culturen flink gegroeid en werden stukjes van den voedingsbodem, waarop de culturen gegroeid waren, uitgesneden en op verse schijven van aardappel en bloemkool in Petri-schalen gelegd en deze weer in den thermostaat (27°) geplaatst. Een dag later was de werking der, door de agar heen gediffundeerde, toxine duidelijk zichtbaar. De culturen op vleeschagar en moutagar hadden verreweg de sterkste werking uitgeoefend en het plantenweefsel, gelegen onder de cultuurstreep, was geheel gedood en daarbij week geworden, bij de bloemkool onder het aan-

¹⁾ 1.5 % pepton, 1.5 % saccharose.

²⁾ 0.25 % asparagine, 1.5 % saccharose.

nemen van een zwarte of grijze kleur. Veel geringer was de werking der culturen op pepton-sacharose- en asparagine-saccharose-agar; slechts een zwak toxische werking was op aardappel en bloemkool te bespeuren. Telkens werd nagegaan of geen bakteriëngroei op de planten was ontstaan, hetzij door groeiing over of dóór de agar, maar dit bleek nooit het geval te zijn geweest en de doodende werking moest dus alleen toegeschreven worden aan de, door de agar heen gediffundeerde, toxine.

Resumeerende kunnen wij dus zeggen, dat *B. omnivorus* een toxine produceert, die door koken onmiddellijk en door inwerking van chloroform vrij snel vernietigd en door alcohol neergeslagen wordt, terwijl een zeer korte inwerking van chloroform of een behandeling met alcohol in staat is, de bakteriën te doden zonder de toxine geheel te vernietigen; door een bougie-filter laat de toxine zich niet of in zeer geringe mate heen persen; op levende plantendeelen, op mout- of vleeschagar, in bouillon wordt in sterke mate, op pepton-saccharose-agar of asparagine-saccharose-agar in veel geringere mate toxine geproduceerd.

In Hoofdstuk V §§ 3 en 4 geef ik van de beide bakteriesoorten een beschrijving.

HOOFDSTUK III.

De stengelrotting of „zwartbeenigheid” der aardappelstruiken, veroorzaakt door *Bacillus atrosepcticus* nov. spec.

Sedert lang ¹⁾ is in Duitschland onder den naam »Schwarzbeinigkeit« of »Stengelfäule« een ziekte der aardappelstruiken bekend, die bijna jaarlijks een niet onbelangrijke schade veroorzaakt ²⁾. Het is echter niet steeds dezelfde ziekte, die bedoeld wordt wanneer men van »zwartbeenigheid« spreekt, want verschillende parasieten zijn in staat de zwarte stengelrotting teweeg te brengen: sommige fungi kunnen haar veroorzaken, maar in de meeste gevallen schijnen bakteriën de oorzaak der ziekte te zijn. Het eerst vinden wij deze meening uitgesproken door FRANK ³⁾, die deze bakterieele »zwartbeenigheid« ook nader bestudeerde ⁴⁾ en uit de zieke deelen een *Micrococcus* isoleerde, die toxische eigenschappen bezat en de aardappelknollen tot rotting kon brengen. De beschrijving van dezen *Micrococcus phytophthorus* is echter zoo onvolledig en de infectieproeven zijn zoo

¹⁾ Zie SORAUER. Oesterr. Landw. Wochenblatt. 1888.

²⁾ Zie o. a. de opgaven in »Jahresbericht des Sonderausschusses für Pflanzenschutz« (1898 — heden).

³⁾ Kampfbuch 1897 bl. 214.

⁴⁾ Centr. f. Bakt. 2e Abth. V (1899) bl. 98.

onnauwkeurig meegedeeld, dat ik deze bacterie nog niet in de rij der planten-parasieten durf opnemen; bovendien werden de infectieproeven alleen verricht aan de knollen, niet aan de stengels, zoodat de bacterie hoogstens als oorzaak der knolrotting, nog niet als die der zwartbeenigheid beschouwd mag worden.

Dat de ziekte ook in Nederland zou voorkomen, was wel waarschijnlijk, maar toch werd zij, zoover mij bekend, nooit hier te lande waargenomen en ook aan het Phytopathologisch Laboratorium werden te voren nooit aardappelstruiken ontvangen, die aan deze kwaal leden. Voor het eerst geschiedde dit in Juli van het vorig jaar; uit Maartensdijk werden toen eenige aardappelstruiken toegestuurd, die verschijnselen van »zwartbeenigheid« vertoonden.

De ongeveer volwassen planten hadden een hoogte bereikt van ± 40 c. M., de onderste bladeren waren afgevallen en van de nog aanwezige waren de oudste aan het afsterven; de top van den stengel en de jongere bladeren waren nog groen en frisch en oogenschijnlijk gezond, maar de stengelbasis was geheel afgestorven, had een pikzwarte kleur aangenomen, was week en rottend en verspreidde een niet sterken doch walgelijken stank.

Uit dit materiaal (het eenige, dat mij ten dienste stond) werd een bacterie geïsoleerd, die sterk toxische eigenschappen bezat en als de oorzaak der ziekte moest beschouwd worden. Wel was ik nog niet in de gelegenheid de infectieproeven op zoo ruime schaal te nemen als wenschelijk was en ook zijn de resultaten der infectieproeven nog niet zoo over-

tuigend als ik gewenscht had, maar toch blijkt, naar ik meen, uit de verkregen resultaten, dat de geïsoleerde bacterie een sterk virulente parasiet van den aardappel is. Hoe en wanneer de infectie in de natuur tot stand komt en op welke wijze de kunstmatige infecties moeten plaats vinden om het volledige ziektebeeld te doen ontstaan, zijn vragen, die ik thans nog niet kan beantwoorden.

Ziekteverschijnselen.

De ziekte vertoont zich gewoonlijk eerst in de maand Juli, wanneer de aardappelplanten reeds een zekeren leeftijd bereikt hebben en volwassen of minstens halfvolwassen zijn. De onderste bladeren gaan dan een gele kleur aannemen en afsterven, en langzamerhand ondergaan ook de hooger gelegen hetzelfde lot, terwijl de stengel van onder af een donkere en eindelijk een pikzwarte kleur aanneemt. Deze verkleuring schrijdt allengs verder omhoog en de stengel wordt daarbij week en rottig en gaat een abjecten stank verspreiden. De top is dan dikwijls nog groen, terwijl de stengelbasis geheel door de zwarte rotting is verwoest. Dergelijke planten sterven natuurlijk vroegtijdig af en brengen geen of weinige en onbeduidende knolletjes voort.

Onderzoek der zieke planten.

Het mikroskopisch onderzoek der zwartbeenige aardappelstruiken, die ik, zooals reeds vermeld werd, in Juli van het vorige jaar ter onderzoek ontving, toonde aan, dat de zieke gedeelten geen fungi herbergden maar wemelden van bakteriën, korte, beweeglijke staafjes. De vaten waren er mee opge-

vuld, en ook in de intercellulaire ruimten van merg en schors waren de mikroben doorgedrongen; niet alleen was dit het geval in het onderste, zwartgekleurde stengelgedeelte, maar ook hoogerop, waar de stengel nog groen en schijnbaar gezond was, waren de bakteriën te vinden. De culturen, die van den inhoud der zieke deelen op vleeschgelatine werden aangelegd, brachten slechts één bakteriesoort tot ontwikkeling: geen andere coloniën kwamen op, dan de zeer typische, vervloeiende van deze ééne, die den naam *Bacillus atrosepticus* ontving.

Infectieproeven.

De eerste infectieproeven werden verricht in Petrischalen op afgesneden stengels, bladstelen en knollen van verschillenden ouderdom ¹⁾. Hierbij bleek, dat de ouderdom van het geïnfecteerde deel van overwegenden invloed is op den uitslag der infectie. De oudere, volwassen stengeldeelen en bladstelen bleken geheel onvatbaar te zijn voor de rotting; zelfs wanneer zij overlangs doorgesneden waren en op de sneevlakte een betrekkelijk groote hoeveelheid bacterie-materiaal gebracht was, gingen deze deelen niet in rotting over. Ook de schijven van volwassen knollen waren moeielijk tot rotting te brengen; het gelukte alleen bij hooge temperatuur (27°). De jonge deelen, zoowel stengeltoppen als bladstelen en knollen, lieten zich echter zeer gemakkelijk tot rotting brengen. Na 24 uur verblijf in den thermostaat van 23° ver-

¹⁾ Zie in het vorige hoofdstuk de nadere beschrijving van deze soort infectieproeven.

toonen deze organen sterke rottingsverschijnselen, hetzij dat de infectie door een steek in het overigens intacte orgaan of als streep op schijven van de jonge knol of op de stengels of bladstelen na verwijdering der epidermis plaats vond. Bij kamertemperatuur (16—18°) verloopt het rottingsproces wat minder snel maar was ook reeds na 24 uur duidelijk in gang en na nogmaals 24 uur verder voortgeschreden.

Minder zekere en overtuigende resultaten hadden de infecties verricht aan de groeiende plant. Daar mij aanvankelijk slechts eenige volwassen aardappelplanten in den proeftuin van het phythopathologisch laboratorium ten dienste stonden, werden deze hiervoor gekozen. In twee jonge stengeltoppen en twee jonge bladstelen werd met een platinanaald wat bakteriën materiaal gebracht (13 Juni). Drie dagen later waren de beide bladstelen aan het afsterven en vielen na korten tijd af; zij hadden een zwarte kleur aangenomen en wemelden van bakteriën, maar de rotting had zich niet op den stengel voortgezet. Van de beide stengeltoppen vertoonde na drie dagen de eene rottingsverschijnselen en had een donkere kleur aangenomen; eenige dagen daarna begon de top te verdrogen en verschrompelde; de andere geïnfecteerde top bleef gezond en bleef doorgroeien.

Eenigen tijd later (4 Augustus) werden nogmaals infecties verricht op jonge kiemspruiten van een aardappel. Een zestal van deze werden met een platinanaald geïnfecteerd, maar slechts één hiervan vertoonde een paar dagen later (6 Augustus) rottingsverschijnselen, tengevolge waarvan het gedeelte boven

de infectieplaats afstierf en verschrompelde (12 Aug.); bij de overige cicatrizeerde zich de wond en kwam geen rotting tot stand.

Al gelukte het dus niet door infectie de karakteristieke ziektesymptomen te voorschijn te roepen, zoo was toch gebleken, dat wij hier te doen hadden met een virulente bakteriesoort, die in staat was zoowel jonge stengeltoopen en bladstelen als jonge knollen tot rotting te brengen en deze omstandigheid gepaard aan het feit, dat in de zieke planten slechts die ééne soort voorkwam, doet ons besluiten, dat deze een parasiet is en zeer waarschijnlijk de oorzaak der zwartbeenigheid.

Nog met enkele andere plantendeelen werden infectieproeven genomen in Petri-schalen bij een temperatuur van 23°. De onderzochte plantendeelen vertoonden alle een veel geringere vatbaarheid dan de aardappel: schijven van jonge peentjes werden in geringe mate aangetast, komkommerschijven in zeer geringe mate, terwijl bloemkool en tomaten in het geheel niet vatbaar waren voor de rotting.

B. atrosepticus schijnt dus wel een specifieke aardappelparasiet te zijn.

In al de geïnfecteerde plantendeelen, die tot rotting waren overgegaan, bleek telkens alleen de ingebrachte bacterie voor te komen. Herhaaldelijk werd deze proef genomen, ook omdat de parasiet bij cultuur op kunstmatigen voedingsbodem haar virulentie zeer snel verliest. Na drie weken was reeds een achteruitgang waar te nemen: volwassen aardappels werden

in het geheel niet meer, jonge aardappels slechts zwak aangetast. Jonge scheuten lieten zich echter nog gemakkelijk tot rotting brengen; het materiaal, dat uit deze rottende scheuten opnieuw geïsoleerd werd, bleek de volle virulente weer teruggekregen te hebben. Een week of zes bleken echter voldoende om de virulentie geheel te doen verdwijnen.

Hoe de infectie in de natuur plaats vindt, is voorloopig nog niet aan te geven; in alle geval moet de stengel wel reeds op jeugdigen leeftijd aangetast worden, aangezien hij later niet meer vatbaar is, en daar de ziekte zich aan de stengelbasis begint te vertoonen, moeten de bakteriën hun werkzaamheid reeds begonnen zijn op een tijdstip, dat die stengelbasis nog zeer jong was, d. w. z. toen de scheut nog slechts eenige c. M. lang was. De bakteriën zijn toen niet dadelijk met volle kracht aan het werk gegaan (misschien belette hun dit de lage voorjaars-temperatuur), anders zou de geheele jonge scheut weggerot zijn; zij moeten slechts langzaam voortgevoekerd zijn, zoodat de stengel kon blijven doorgroeien. Eerst later (gewoonlijk in de maand Juli) zal de sterke vermeerdering der parasieten hebben plaats gevonden, waardoor de stengelrotting tot stand kwam.

In Hoofdstuk V § 5 heb ik een beschrijving der bacterie gegeven.

HOOFDSTUK VI.

De Seringenziekte, veroorzaakt door *Pseudomonas Syringae* nov. spec.

De bacterieziekte der seringën, welke het eerst door SORAUER ¹⁾, later ook door RITZEMA BOS ²⁾ werd waargenomen en beschreven, begint zich gewoonlijk reeds in de maand Mei te vertoonen. Aan de bladeren en aan de jongste internodiën ontstaan bruine, later zwarte plekjes, die snel in omvang toenemen. Op de twijgen strekken zij zich in de lengte uit, vooral naar omhoog, en gaan daarbij dikwijls over op bladstelen en bladeren, of ook zij breiden zich meer rondom het takje uit, dat dan over een afstand van eenige c.M. geheel zwart gekleurd is en op deze plaats gemakkelijk omknikt; dan sterft natuurlijk weldra het daarboven gelegen twijgstukje af en verdroogt, terwijl in het eerstgenoemde geval de twijg dikwijls nog lang in leven blijft en de sterfte zich bepaalt tot eenige, somtijds tot een geheele rij, boven elkaar gezeten bladeren. De vlekken, die zich het eerst op de bladeren vertoonen, strekken zich verder over de bladschijf en -steel uit en kunnen op den tak overgaan; worden

¹⁾ Z. f. Pflkr. I (1891) bl. 186.

²⁾ Tijdschr. over Plantenziekten V (1899) bl. 177.

de bladeren in zeer jeugdigen toestand aangetast, dan sterven zij meestal spoedig geheel af; vindt dit eerst op lateren leeftijd plaats, dan strekt zich de sterfte en de zwartkleuring dikwijls slechts over een deel der bladschijf uit, terwijl het blad zelf, indien het nog in de groeiperiode verkeerde, niet zelden kronkelingen en scheuren verkrijgt tegevolge van den ongelijken groei.

Veelal blijken de huidmondjes en hun onmiddellijke omgeving de plaatsen zijn, waar de vlekken beginnen op te treden. De cellen van blad- of schorsweefsel zijn daar dan afgestorven, terwijl zij later van elkaar losraken en in klompjes opeen komen te liggen, dikwijls ingesloten in een slijmmassa, die wemelt van bakteriën. Deze bakteriën blijken trouwens bij nader onderzoek in het geheele zieke weefsel verspreid te zijn; de intercellulaire ruimten van het bruingekleurde blad- en schorsparenchym zijn er soms geheel mee opgevuld. ¹⁾

Zoowel SORAUER als RITZEMA BOS vermoedden, dat de bakteriën als de oorzaak der ziekte beschouwd moesten worden; het bewijs, dat deze veronderstelling juist was, leverde BEYERINCK ²⁾.

¹⁾ Later nestelen zich dikwijls zwammen in de zieke deelen; vooral een Botrytis-soort vertoont zich dan niet zelden. Dit is echter een secundair verschijnsel.

²⁾ Zoals ik reeds in de inleiding van dit proefschrift meedeelde, was ik zelf niet in de gelegenheid infectieproeven te nemen; virulent bakteriën-materiaal kon ik mij n.l. niet verschaffen, omdat in 1901 de ziekte zich in Nederland in het geheel niet vertoond heeft. Prof. BEYERINCK was echter zoo vriendelijk mij toe te staan, de resultaten van zijn infectieproeven hier mee te deelen.

Uit de zieke deelen werd door hem een bacterie geïsoleerd, met welke de volgende infectieproeven werden verricht.

Op 18 Juni (1899) vonden de eerste infectie-proeven plaats aan seringentwijgen en -bladeren met materiaal van reïnculturen, dat door middel van een fijn lancetje in de gezonde weefsels werd gebracht. De uitwerking was spoedig zichtbaar; het afstervingsproces, dat begonnen was op de plaats van infectie, strekte zich over bladeren en takken uit en reeds een week later (25 Juni) waren de karakteristieke ziektesymptomen aanwezig en hadden de vlekken zich over twijg en bladeren uitgestrekt.

Op 25 Juni werd een nieuwe reeks infectieproeven begonnen, waarbij, behalve de sering, ook nog andere planten besmet werden. Slechts één van deze bleek vatbaar voor de ziekte n.l. de esch (*Fraxinus excelsior*), de andere niet, d.w.z. in geen van deze vond vermeerdering en verspreiding der bacteriën plaats; wel had de infectie met materiaal gegroeid op vleesch- of moutgelatine soms het afsterven van takken of bladeren ten gevolge, maar het onderzoek toonde, dat deze doodende werking niet rechtstreeks aan den invloed der bacteriën moest toegeschreven worden en waarschijnlijk veroorzaakt was door het virus, dat de microben op den kunstmatigen voedingsbodem geproduceerd hadden en waarvan een hoeveelheid, tegelijk met de bacteriën zelf, in het plantenweefsel was gebracht. Dergelijke afstervingsverschijnselen werden door Prof. BEYERINCK waargenomen aan populier (*Populus nigra*),

appelboom, pereboom, *Prunus Mahaleb*, boekweit, *Atriplex hortensis*. Geen uitwerking was te bespeuren aan *Quercus cerris*, *Deutzia scabra*, *Sorbus aucuparia*, aardappelplant, *Spiræa spec*, *Dipsacus sylvestris*, *Helianthus tuberosus* en onzeker waren de resultaten aan *Cytisus Adami*, luzerne, perzik, *Genista tinctoria*.

Aan de sering hadden de infecties steeds positief resultaat, hetzij dat zij plaats vonden aan volwassen of onvolwassen bladeren of aan takken. In het laatste geval was de doodende werking echter nog sneller. Het bleek bij deze proeven, dat het afstervingsproces zich sneller uitbreidde dan de bakteriën zelf; in de pas gestorven weefsels waren de parasieten nog niet te vinden; eerst later drongen zij tot hier door, nadat ondertusschen de sterfte zich al weer verder had uitgestrekt. Dit feit doet vermoeden, dat de bacterie een toxine produceert, die zich snel verspreidt, sneller dan de bakteriën zelf, en blijkens hare werking een sterk vergift is.

Het bakteriënmateriaal, dat voor deze proeven was gebruikt, werd door Prof. BEYERINCK in cultuur gehouden en het volgend jaar (1900) wederom gebruikt voor infectieproeven, die de vroegere waarnemingen bevestigden.

Wel waren echter de teweeggebrachte ziektesymptomen minder heftig en het verloop der ziekte minder snel; een vermindering der virulentie tengevolge der cultuur op kunstmatigen voedingsbodem scheen te hebben plaats gevonden. Het daarop

volgend jaar (1901) was dit nog duidelijk te bespeuren; de infecties hadden wel afsterving der bladeren en twijgen tengevolge, maar het onderzoek der geïnfecteerde loten, die Prof. BEYERINCK mij toezond, toonde mij, dat er geen verspreiding der parasieten in de plant had plaats gevonden; de bakteriën waren nog slechts te vinden op de plaats der infectie en het afsterven moest dus waarschijnlijk toegeschreven worden aan de werking der toxine, die op den cultuurbodem (vleeschgelatine) geproduceerd was en tegelijk met de bakteriën in de twijgen of bladeren was gebracht.

Het was mijn voornemen geweest in den zomer van het vorige jaar het onderzoek van deze ziekte, die ik reeds in 1900 in de gelegenheid geweest was te observeren, ter hand te nemen en infectie proeven in te stellen. Terwijl echter in de jaren 1899 en 1900 zoowel te Boskoop als te Naarden de ziekte in sterke mate was opgetreden en vrij groote schade had veroorzaakt, bleek zij in 1901 op beide plaatsen geheel te zijn uitgebleven. Zelf den parasiet te isoleeren en op deze wijze virulent bakteriën materiaal te krijgen, was mij dus niet mogelijk. Door de vriendelijkheid van den heer JAC. SMITS, boomkweker te Naarden, was ik echter in het bezit gekomen van een tiental seringensboompjes van variëteiten, die zeer vatbaar voor de kwaal waren en met de bakteriëncultuur van Prof. BEYERINCK heb ik nog getracht deze exemplaren te infecteeren. Maar deze proeven hadden geen beter resultaat dan die, welke in dat jaar door Prof. BEYERINCK zelf genomen waren: bij de variëteiten Marie Legraye, Alphonse Lavallée en La Tour d'Auvergne, alle

geïnfecteerd in het op één na jongste internodium van eenige twijgen, traden de uitwendige symptomen der ziekte in zwakke mate op, maar het onderzoek toonde, dat de bacteriën zich niet verbreid hadden door het parenchym; bij de variëteiten M^{me} Casimir Perier en Lemoinei bleven de planten ondanks de infectie volkomen normaal.

Welke omstandigheden de ziekte in de hand werken, is nog niet nauwkeurig nagegaan. De mededeeling van SORAUER ¹⁾, dat in het algemeen »das Klima des Krankheitsheerdes als feucht bezeichnet (wird)«, komt wel overeen met het feit, dat in den drogen voorzomer van het vorig jaar de ziekte bij ons te lande geheel scheen te ontbreken. Wellicht heeft ook de voedingswijze van de planten een belangrijken invloed op hunne vatbaarheid; de heer SMITS meldde ons b.v., dat, sinds hij het bemesten met stadscompost had nagelaten, de ziekte zich bij hem niet meer vertoond had. Mochten dergelijke feiten meer geconstateerd worden, dan zal bij de bestrijding in de eerste plaats in deze richting dienen gewerkt te worden, om door een doeltreffende bemesting de resistentie der planten te verhoogen.

De teweeggebrachte schade kan somtijds zeer aanzienlijk zijn. De heer SMITS deelde mij mee, dat deze op zijn kweekerij in één jaar naar schatting ongeveer f 5000 bedragen had.

Een beschrijving van den parasiet, *Pseudomonas Syringae*, geef ik in Hoofdstuk V § 6.

¹⁾ l. c. bl. 188.

HOOFDSTUK V.

Beschrijving der vier nieuwe bakteriesoorten.

§ 1. Algemeene opmerkingen over het beschrijven van een bakteriesoort.

Niet alleen uit een algemeen-bakteriologisch, maar vooral uit een phytopathologisch oogpunt is het naar mijn meening van belang een nauwkeurige beschrijving te geven van een 'parasitische bakteriesoort. Waar men met zeer karakteristieke ziekten te doen heeft, zooals het geelziek, de zwartnervigheid der koolen of de knobbelsiekte der olijven, waarbij reeds uit de ziektesymptomen volgt, dat de parasiet zeer bijzondere en karakteristieke eigenschappen heeft, daar zal het wel nauwelijks noodzakelijk zijn, telkens nauwkeurig de bacterie na te gaan, teneinde uit te maken, of men te doen heeft met den *Ps. Hyacinthi*, den *Ps. campestris*, den *B. Oleae*, en men zal van te voren reeds overtuigd zijn, dat hierbij steeds dezelfde soorten aan het werk zijn.

Doch bij ziekten met eenvoudiger verloop, met name bij rottingsziekten, staan de zaken anders, want de meest verschillende bakteriën kunnen hier eenzelfde ziektebeeld doen ontstaan. Met het oog op de bestrijding en mogelijke be-

smetting van andere gewassen is het dan natuurlijk zeer noodzakelijk te weten, met welken vijand men te doen heeft en of deze reeds is waargenomen als oorzaak van ziekte in andere gewassen.

Onder de drie door mij bestudeerde ziekten zijn er twee, die onder de rottingsziekten thuis behooren, nl. de Iris-ziekte en de »zwartbeenigheid« der aard-appelen. Voor deze vooral gold het dus een duidelijke beschrijving der parasieten te geven.

Een beschrijving van een soort is des te beter naarmate zij vollediger is, naarmate het aantal der nauwkeurig beschreven eigenschappen grooter is. De vraag is echter, welke eigenschappen hiervoor in aanmerking komen.

Terecht merkten ARTHUR MEIJER en GOTTHEIL ¹⁾ op, dat bij het beschrijven van een kenmerk vooral aan hare variabiliteit de aandacht gewijd moet worden; uit een praktisch oogpunt zullen echter voor een soortbeschrijving in het algemeen de eigenschappen, die weinig variabel zijn, den voorkeur verdienen.

Maar vóór alles moet het kenmerk goed beschrijfbaar zijn. Met vele zeer karakteristieke kenmerken is dit echter niet het geval en juist diegene, waaraan men een bakteriesoort, die men zelf in cultuur heeft, pleegt te herkennen, zijn daardoor voor de beschrijving onbruikbaar. Zoo ontwikkelt b.v. de Iris-parasiet, *Pseudomonas Iridis*, op vleeschgelatine een karakteristiek-zuren geur, waaraan men de soort

¹⁾ Centr. f. Bakt. 2e Abth. VII (1901) bl. 433.

onmiddellijk herkennen kan, doch die zich niet beschrijven laat, en ontwikkelt *Bacillus omnivorus* op verschillende eiwithoudende substrata een abjecten stank, die echter in meer dan één opzicht onbeschrijfelijk is. Hetzelfde is dikwijls het geval met het uiterlijk der colonies op vleeschgelatine, die, vooral als men met een vervloeiende soort te doen heeft, ondanks hun variabiliteit, steeds een karakteristieken habitus hebben, die wèlbekend is aan ieder, die de soort bestudeerd heeft, maar moeielijk onder woorden kan gebracht worden.

Voldoen de beschrijvingen der bakteriën, zooals die gewoonlijk gegeven worden, aan de eischen, die wij hierboven gesteld hebben? »Of the thousand or more forms which have been studied and named, or designated by letter or figures or vernacular names, probably not one-tenth can be identified with any certainty owing to the meagerness of the descriptions« meende ERWIN SMITH ¹⁾ en weinige zullen hem dit durven tegenspreken; de fout ligt hier echter, naar het mij voorkomt, niet aan de uitvoering der methoden, maar wel aan de methoden zelve. Wanneer wij nagaan, welke kenmerken gewoonlijk bestudeerd en in de beschrijvingen vermeld worden, dan blijkt het, dat die voor het meerendeel niet voldoen aan de eischen, die wij hierboven gesteld hebben, omdat hun variabiliteit te groot is en zij niet scherp beschrijfbaar zijn.

Door GOTTHEIL ²⁾ is hier onlangs de aandacht

¹⁾ Amer. Naturalist XXX 1896 bl. 634.

²⁾ Centr. f. Bakt. 2e Abth. VII (1901) bl. 430.

op gevestigd en een eerste stap gedaan om hierin verandering te brengen, door op den voorgrond te stellen die kenmerken, welke het meest constant zijn, en door steeds de mate van variabiliteit der kenmerken zooveel mogelijk vast te stellen. Voor de sporenvormende bakteriën meende hij, dat vooral de morphologische eigenschappen constant en dus belangrijk voor de beschrijving waren, terwijl ook onder de physiologische sommige door hem van waarde geacht werden. Bij niet-sporenvormers is men echter nagenoeg geheel aangewezen op de laatstgenoemde kenmerken en ik heb daarom getracht bij de bestudeering der vier nog onbeschreven parasitische asporogene bakteriën, die ik in cultuur had, zooveel mogelijk physiologische kenmerken te vinden, die goed beschrijfbaar zijn en òf op constante wijze optreden òf althans binnen niet al te ver uiteenliggende grenzen varieeren.

§ 2. Beschouwing van eenige kenmerken der bakteriënsoorten en beschrijving der gevolgde methoden.

A. Morphologische eigenschappen.

Afmetingen der bakteriën. De afmetingen der afzonderlijke staafjes behooren tot de meest variabele eigenschappen, van welke het echter relatief gemakkelijk is de grootte der variabiliteit vast te stellen. In allen gevalle moeten echter de omstandig-

heden, waaronder de bakteriën zich bevonden toen de bepaling der afmetingen plaats vond, nauwkeurig vastgesteld en aangegeven worden.

Geesels. GOTTHEIL heeft er terecht op gewezen, dat men bij een uitblijven van de beweeglijkheid niet mag concludeeren, dat de soort steeds alle beweeglijkheid mist, en dat deze niet zelden eerst onder bepaalde conditiën van voeding en temperatuur optreedt. Zijn de resultaten echter positief, dan heeft het waarde te vermelden, onder welke omstandigheden de beweeglijkheid is opgetreden en hoe de geesels zijn gerangschikt.

B. Physiologische eigenschappen.

Uiterlijk der verschillende culturen. Gewoonlijk wordt dit onderwerp bij de beschrijvingen uitvoerig behandeld en zoowel de coloniën- als de steek- en streepculturen op vleeschgelatine en -agar, de culturen op aardappel, in Löfflersche bouillon enz. uitvoerig beschreven. Dit ligt dan ook voor de hand, want voor den onderzoeker zelve hebben die culturen veel karakteristieks en met een enkelen oogopslag kan hij er dikwijls aan zien, of hij de bewuste soort voor zich heeft. Maar daarmee is nog niet gezegd, dat een beschrijving van die coloniën en culturen, hoe nauwkeurig ook, in staat is voor anderen de soort goed te karakteriseeren, want hun uiterlijk is zeer variabel, al is dan ook voor hem, die met de soort goed bekend is, steeds een typischen habitus te herkennen. Maar deze laat zich niet onder woorden brengen; wel is somtijds

een afbeelding in staat dezen weer te geven ¹⁾. Bovendien hebben wij bij vleeschbodems steeds te doen met media van onbekende en veranderlijke samenstelling, zoodat wij het niet in onze macht hebben, de variabiliteit der culturen tot een minimum te beperken. Ik kan het daarom niet eens zijn met MIGULA ²⁾, waar hij zegt: „Diese Merkmale sind zwar durchaus nicht so konstant, dass ihnen deshalb eine besondere Bedeutung zukäme, sie sind aber nicht nur verhältnissmässig leicht festzustellen sondern auch sehr mannigfaltig, und gerade deshalb mit die unentbehrlichste von allen.” Wel geef ik toe, dat somtijds bij die culturen enkele zeer typische eigenschappen (fluorescentie, pigmentvorming, enz.) voor den dag kunnen komen, die bij de beschrijving vermeld moeten worden.

Temperatuur. Nauwkeurige bepaling van optimum is zeer bezwaarlijk en tijdroovend. Bepaling der maximum-temperatuur heeft waarde, mits volledig aangegeven worde, onder welke condities deze plaats vond. Ik deed de bepaling op de volgende wijze. Een weelderige, 24 uur oude bouillon cultuur wordt in reageerbuisjes verdeeld, zoodat ieder eenige c.M.³ ervan bevat. De buisjes worden vervolgens 10 minuten lang gehouden in een groot bekersglas water, dat gedurende dien tijd op constante temperatuur gehouden wordt. Onmiddellijk daarna wordt met een groot platinaoogje hiervan geënt in even-

¹⁾ In een atlas als die van LEHMANN und NEUMANN zijn dan ook die afbeeldingen zeker op haar plaats.

²⁾ System der Bakteriën. I 1897, bl. 245.

zooveel buisjes met sterielen Löfflerschen bouillon, die vervolgens in den thermostaat bij 27° worden gezet, om na te gaan, of ontwikkeling plaats vindt. Steeds werd eerst een globale bepaling gedaan door de buisjes op de temperaturen van 40° , 45° , 50° , 55° , 60° te houden en daarna een meer nauwkeurige.

Zuurstofbehoefte. Zooals welbekend is, is de verdeling in aëroben en anaëroben slechts een zeer grove en bestaan alle mogelijke overgangen tusschen de twee uitersten. Iedere bakteriesoort volgt een eigen gedragslijn ten opzichte van de zuurstof en deze gedragslijn is weer verschillend naar gelang der voedingsvoorwaarden; maar in dit opzicht is de gevoeligheid niet zoo groot, dat voedingsmedia van niet zeer constante samenstelling, zooals vleeschgelatine, verschillende uitkomsten zouden geven; alleen bij voedingsmedia, die onderling zeer verschillend zijn van samenstelling, komt die gevoeligheid voor den dag.

Om de zuurstofbehoefte na te gaan, kunnen verschillende methoden toegepast worden.

1°. Steekculturen. Zooals ik reeds opgemerkt heb, is het m. i. niet belangrijk, nauwkeurig de wijze van groeien bij deze culturen na te gaan ¹⁾, maar wel geeft deze een indruk van de zuurstofbehoefte. Terwijl nl. bij de eene soort de groei reeds ophoudt eenige m. M. onder de oppervlakte, gaat deze bij een andere tot op den bodem van den steek door. Om de zuurstof uit den voedingsbodem zelf zooveel mogelijk te verwijderen, is het noodig dezen te koken

¹⁾ Ik sluit mij hieromtrent geheel aan bij hetgeen GOTTHEIL op bl. 450 van het Centr. f. Bakt. 2e Abth. VII (1901) opmerkt.

en daarna snel af te koelen. De proef kan nog verscherpt worden door, na enting, op de agar of gelatine een laagje van deze stoffen te brengen en zoo de diffusie van de atmosferische zuurstof in het geënte gedeelte grootendeels tegen te gaan.

20. Culturen in voedingsvloeistoffen, afgesloten van de lucht. Uitgekookte en daarna snel afgekoelde vloeistoffen worden met een laagje steriele olijsolie bedekt. De groeiintensiteit is hierbij voor verschillende soorten zeer verschillend.

30. Culturen in Petri-schalen onder glas hebben mij niet meer geleerd dan steekculturen. Men kan het bakteriën materiaal in groote hoeveelheid uitzaaïen boven op den voedingsbodem of het materiaal er eerst doorheen schudden, en vervolgens een glaasje of helder micaplaatje op den voedingsbodem leggen.

Reductie van kleurstoffen.

In dit opzicht zijn de onderlinge verschillen der soorten even talrijk als op het punt der zuurstofbehoefte. In het algemeen mag men zeggen, dat den anaëroben een sterker reductievermogen toekomt dan den aëroben, maar toch gaat deze regel niet streng door en soms reduceeren obligaataëroben sterker dan facultatief-anaëroben, zooals ook al reeds blijkt bij de vergelijking van de vier door mij beschreven soorten. Gewoonlijk wordt het reductievermogen nagegaan in voeïstoffen, die niet van de lucht zijn afgesloten. Dit heeft echter het bezwaar, dat de atmosferische zuurstof in de vloeistof kan doordiffundeeren en de reductie gedeeltelijk weer opheffen;

vandaar een langzame en onzekere ontkleuring en soms een terugkeeren van de kleur nadat zij eerst geheel verdwenen was. Dit vertoonde zich o.a. bij de reductie van lakmoes door Ps. SYRINGAE ¹⁾; 24 uur nadat volkomen ontkleuring had plaats gevonden in een cultuur in bouillon met lakmoes, was de paarse kleur weer eenigszins teruggekeerd, en na nogmaals 24 uur was de kleur nog versterkt. Een zwakke beweging van de vloeistof en, naar het mij voorkomt, ook schommelingen in de temperatuur van den thermostaat werken dergelijke verschijnselen in de hand. Bovendien zijn daardoor de verkregen uitkomsten zeer verschillend: bij cultiveering in niet-afgesloten bouillon reduceerde Ps. Iridis het methyleenblauw (0.002 %) geheel na 3, somtijds echter eerst na 5 of 6 dagen; sluit men echter de culturen van de atmosfeer af door een laagje steriele olie, dan zijn de resultaten veel constanter en daardoor van veel meer waarde. Al mijn reductie-experimenten heb ik daarom verricht in reageerbuisjes, waarin ik op de eerst uitgekookte, daarna snel afgekoelde en geënte cultuurvloeistof een laagje olie schonk. Vóór de enting werd steeds de vloeistof uitgekookt en snel afgekoeld, om ook van variaties, ten gevolge van verschillen in de hoeveelheid opgeloste zuurstof, vrij te zijn. Deze reductie kan aan verschillende stoffen nagegaan worden; methyleenblauw, rosolzuur, en indigo zijn hiervoor zeer geschikt, minder geschikt is lakmoes, omdat de in den handel onder

¹⁾ Deze proef is niet bij de beschrijving der soort vermeld.

dien naam voorkomende stoffen in samenstelling dikwijls zeer verschillen. Ik heb alleen methyleenblauw gebruikt in twee sterkten: 0.002% en 0.004%.¹⁾

Reductie van nitraten is van nog meer belang dan de vorige, en de bacteriën laten zich naar het bezit of gemis van deze eigenschap in twee scherp gescheiden groepen verdeelen. Het beste laat zich deze eigenschap onderzoeken op vaste voedingsbodems, waaraan men 0.2% oplosbaar zetmeel en $\frac{1}{20}$ % of $\frac{1}{10}$ % kalinitraat heeft toegevoegd. Reeds na 24 uur kan men nagaan, of er reductie heeft plaats gevonden, d.i. of er kalinitriet is gevormd. Men overgiet hiertoe de plaat met verdund zoutzuur, waaraan wat joodkali is toegevoegd (zoodat joodwaterstof gevormd wordt); zijn nitrieten aanwezig, dan ontstaat er vrije jodium en wordt het zetmeel in de plaat blauw gekleurd. Heeft men met een sterken diastasevormer te doen, dan kan het misschien wenschelijk zijn, het percentage zetmeel te vergrooten.

Deze proeven over nitraat-reductie, gepaard aan de uitkomsten, die verkregen werden door de auxanogrammen op agar-gelatine + 0.1% KNO_3 toonen wel aan, dat, althans bij onze drie bacteriesoorten *B. omnivorus*, *B. atrosepticus* en *Ps. Syringae* de reductie van het kalinitraat wel degelijk gepaard gaat met verwerking van deze stof als

¹⁾ De eerstgenoemde concentratie is de door ERWIN SMITH (»Cultural Characters etc.« U. S. Dep. Agr. Div. Veg. Phys. Path. Bull. 28) aangegevene. Zij wordt bereid door van een 0.1% oplossing van methyleenblauw in water 2 c. M. bij 100 c. M. van de voedingsvloeistof te voegen. In sommige gevallen bleek mij de dubbele concentratie wenschelijker.

voedingsstof en dat dus de opvatting, die GOTSCHLICH (Flügge, Microörganismen I 1896 bl. 119) e. a. van de nitraatreductie huldigen, onjuist is. Het gereduceerde nitraat dient deze bakteriën wel degelijk als voedingsstof, zooals blijkt uit den weelderigen groei op agarbodem, die slechts duinwater + 0,025 % K_2HPO_4 + 0.1 % KNO_3 + 3 % rietsuiker bevat, of in een vloeistof van deze samenstelling ¹⁾.

Reductie van selenieten. Vele bakteriën reduceeren deze zouten, zoodat vrij selenium (steenrood) wordt afgescheiden. Men voegt, om dit na te gaan, 0.05 %—0.1 % natriumseleniet aan den voedingsbodem toe.

Voedingswaarde van verschillende koolstof- en stikstofverbindingen.

Gewoonlijk wordt dit onderwerp in de beschrijvingen der bakteriesoorten slechts zeer terloops behandeld en toch vertoonen de bakteriën juist op dit gebied zeer scherpe en betrekkelijk gemakkelijk te constateeren verschillen. GOTTHEIL ²⁾ heeft dit reeds ingezien en in tegenstelling met andere auteurs, die alleen aan den groei in bouillon veel aandacht wijdden, ging hij den groei na in een elftal oplosingen, met verschillende koolstof- en stikstofbronnen. Dit is zeker een vooruitgang, maar men kan, naar ik meen, in deze richting nog veel verder gaan en bovendien een methode gebruiken, die scherper resultaten oplevert.

¹⁾ Zie de nadere uiteenzetting van deze culturen bij de beschrijving dier bakteriesoorten in § § 4, 5 en 6 van dit Hoofdstuk.

²⁾ l. c.

De auxonographische methode van BEYERINCK ¹⁾ en WIJSMAN ²⁾ is sedert lang bekend en wordt ook nu en dan gebruikt om voedingscondities na te gaan, maar toch is door de bakteriologen nog niet de waarde ingezien, die deze methode heeft voor het nagaan van de voedingseigenschappen der bakteriën.

Om na te gaan, welke koolstofbronnen bruikbaar zijn, wanneer naast de noodige anorganische zouten ³⁾ één bepaalde stikstofbron (b.v. 1 % pepton «Witte») aanwezig is, ging ik aldus te werk. In een kolfje, bevattende 50 cM². duinwater, + 0.025 % kaliphosphaat, + 0.5 % agar + 1 % gelatine ⁴⁾ wordt 1 % pepton opgelost; in vloeibaren toestand wordt het mengsel snel onder voortdurend schudden onder de kraan der waterleiding afgekoeld, totdat de temperatuur laag genoeg is om door de bakteriën verdragen te worden. Dan werd ongeveer 2 c.M. ³ gesteriliseerd duinwater, waarin een ruime hoeveelheid materiaal van de te onderzoeken soort gebracht was, er snel doorheen geschud en de massa in een groote Petri-schaal van 2 d.M. middellijn uitgegoten. Als de agar-gelatine gestold was, werden op verschillende punten kleine hoeveelheden van een aantal koolstofverbin-

¹⁾ Arch. Néerl. XXIII p. 367; ref. Centr. f. Bakt. 1e Abth. VII (1890) p. 317.

²⁾ WIJSMAN. De Diastase (Acad. Proefschr. Amsterdam 1889).

³⁾ Ik gebruikte hiervoor duinwater + 0.025 % K_2HPO_4 .

⁴⁾ Aanvankelijk gebruikte ik 1.5 % agar zonder gelatine. Hiermee werden echter minder duidelijke auxanogrammen verkregen; waarschijnlijk was de bodem te vast.

Met 0.5 % agar verkreeg ik een te slapen bodem; door toevoeging van 1 % gelatine werd dit euvel verholpen, ook bij auxanogrammen van vloeïende soorten.

dingen op den voedingsbodem gelegd 1). Op één plaat bracht ik gewoonlijk 7 stoffen; de onderlinge afstand is dan ongeveer 1 d.M.; brengt men er meer stoffen op, dan wordt het auxanogram licht onduidelijk. Na 24 uur 2) zijn reeds resultaten verkregen. Bij sommige koolstofverbindingen is reeds een duidelijke groei ontstaan, die zich voordoet in den vorm van een dofwit cirkelvlak om de plaats, waar men de stof had opgebracht. Soms tijds vertoont zich alleen een ronde ring; dit is een bewijs, dat de opgebrachte hoeveelheid te groot is geweest, immers in de onmiddellijke omgeving van de plek, waar de stof is gelegd, is de concentratie van deze, die zich door diffusie door de agar verspreidt, te sterk en is geen groei ontstaan.

Bij andere koolstofbronnen is na 24 uur in het geheel geen groei ontstaan, bij weer andere een zwakke. Na nogmaals 24 uur is bij deze laatste de groei gewoonlijk toegenomen, en bij diegene die aanvankelijk onbruikbaar schenen, is groei ontstaan. Uit een dergelijk laat en aarzelend optreden van groei heb ik nooit een conclusie getrokken en het feit als twijfelachtig genoteerd; in de meeste gevallen zal het wel een aanwijzing geweest

1) Welke hoeveelheid hiervoor genomen wordt, is tot op zekere hoogte onverschillig. Bij koolhydraten is het gewenscht niet te weinig te nemen (b.v. een paar c.G.) teneinde zekere resultaten te verkrijgen; bij de organische zouten is het echter noodzakelijk slechts met zeer geringe hoeveelheden (b.v. 1 m.G.) te werken, daar deze stoffen reeds bij geringe concentratie den groei gaan belemmeren.

2) Bij een geschikte temperatuur, ik werkte steeds bij 27°. Onze gelatine vervloeit niet bij deze temperatuur, die dicht bij het optimum der onderzochte soorten lag.

zijn van de, zij het ook zwakke, waarde der koolstofverbinding; het is echter ook mogelijk en in sommige gevallen waarschijnlijk, dat de groei veroorzaakt werd door een verontreiniging van de gebruikte stof (wat bij sommige suikers en peptonen, zelfs onder de z.g. zeer zuivere, licht voor kan komen) of door geringe hoeveelheden assimileerbare stof, die in de agar zelf voorkwamen.

Voordat men echter omtrent de door auxanogrammen verkregen resultaten een oordeel velt, dient men over twee zaken georiënteerd te zijn:

1° of er onder de te gebruiken stoffen ook zijn, die in den voedingsbodem een neerslag doen ontstaan;

2° wanneer onderzocht wordt, welke koolstofbronnen bij een bepaalde stikstofbron bruikbaar zijn, dient eerst nagegaan te worden, of sommige van deze, ook zonder aanwezigheid van eenige speciaal aangebrachte stikstofbron, groei in de agar doen ontstaan als gevolg van aanwezige voedingsstoffen in de agar zelf.

Wat de eerste kwestie betreft, spreekt het van zelf, dat stoffen, die een neerslag doen ontstaan, voor auxanografische proeven onbruikbaar zijn: door het gevormde neerslag is het onmogelijk na te gaan, of er groei is, en ongeoeffenden zullen wellicht het doffe neerslag voor bakteriëngroei aanzien. Van de door mij te gebruiken stoffen veroorzaakten alleen natrium- en ammoniumoxalaat een precipitaat (van calciumoxalaat); deze beiden werden dus niet bij het verdere auxanografische onderzoek gebruikt.

En wat het tweede punt betreft, zoo is het wel-

bekend, dat agar en gelatine niet geheel vrij zijn van opneembare koolstof- en stikstofverbindingen, al is ook meestal het quantum hiervan zeer gering. Wanneer dus een of andere koolstofverbinding in een agar-gelatinebodem, waaraan een stikstofverbinding is toegevoegd, een zwakken groei doet ontstaan, dient men zeker te zijn, dat deze niet te danken is aan stikstofhoudende stoffen, die reeds in de agar of gelatine aanwezig waren. Daarom is het noodig allereerst een agar-gelatinebodem samen te stellen, waaraan geen stikstofbron wordt toegevoegd, en hierop te brengen de verschillende koolstofbronnen, waarmee men experimenteren wil. Doen sommige van deze groei ontstaan, dan dient hiermee rekening gehouden te worden. Wanneer dat echter in al te sterke mate het geval is, is de agar-gelatine voor auxanogrammen ongeschikt; zij zelf bevat dan reeds te veel voedingsstoffen; alleen wanneer bij sommige koolstofbronnen een hoogstens zwakke groei ontstaat, is de agar-gelatine bruikbaar. Bij het onderzoek van verschillende stikstofverbindingen met éénzelfden koolstofbron moet natuurlijk op gelijksoortige wijze vooraf een contrôle-proef gedaan worden.

Van de vier door mij onderzochte bacteriën vertoonde alleen *Pseudomonas Iridis* op agar-gelatine zonder toegevoegde stikstofverbinding groei, doch een uiterst zwakken, met saccharose, glucose, laevulose, maltose, manniet en glycerine, welke alle stoffen zijn, die in de auxanogrammen van *Ps. Iridis* met toegevoegde stikstofverbindingen een zeer sterken groei deden ontstaan. Bij de overige drie soorten

ontstond door geen der aangeboden koolstofverbindingen in agar-gelatine zonder stikstofverbinding eenige groei. De uitkomsten der auxanogrammen met stikstofverbinding gaven dus een juist beeld van de voedingscondities en behoeften geen correctie. Evenmin ontstond door het aanbrengen van een stikstofverbinding, die zelf niet reeds tevens geschikte koolstofbron was, groei op agar-gelatine, waaraan geen koolstofbron was toegevoegd.

De langs auxanografischen weg verkregen resultaten waren zeer standvastig,⁷ wat bij herhaalde controleering bleek en zoo leverden de auxanogrammen goede kenmerken, die de soort karakterizeeren.

Ik dien echter dadelijk hierbij te voegen, dat mijn proeven uitsluitend de practische bedoeling hadden karakteristieke soortkenmerken te vinden, en niet, de voedingsvoorwaarden uit een physiologisch oogpunt te bestudeeren. Was dit de bedoeling geweest, dan had ik er voor moeten zorgen, volkomen zuivere stoffen te gebruiken en dus niet de in den handel voorkomende, waaronder vele, vooral onder de koolhydraten, niet geheel vrij zijn van bijmengingen. Ik heb er echter de voorkeur aan gegeven, de algemeen gemakkelijk verkrijgbare stoffen te gebruiken, om de methode zoo practisch mogelijk te houden en zoo in te richten, dat ieder haar gemakkelijk kon navolgen. Traden twijfelachtige resultaten op (zooals bij sommige eiwitten en een enkel koolhydraat), dan heb ik hieruit geen conclusie getrokken. Maar bovendien kan de auxanografische methode zelf ook moeielijk een volledig beeld geven

van de voedingsvoorwaarden: de positieve resultaten zijn zeker betrouwbaar, maar uit de negatieve mag men niet afleiden, dat de onderzochte stof ook alle voedingswaarde mist, wèl dat deze hoogstens zeer gering is. Dit blijkt wanneer men de resultaten gaat controleeren in vloeistoffen; een enkele maal treedt n.l. in de vloeistoffen een zwakke en langzame groei op, waar deze in de auxanogrammen is uitgebleven. Maar door de standvastigheid der uitkomsten leveren de auxanogrammen uitstekende kenmerken voor de diagnose der soort. Bovendien is de methode een vlugge en worden met haar in korten tijd een aantal combinaties van stikstof- en koolstofbronnen onderzocht: door combineering van 4 stikstof- en 16 koolstofbronnen en door gebruikmaking van 16 stoffen, die in beide opzichten bruikbaar zijn, kon ik dus van 80 combinaties de voedingswaarde nagaan. Bij dit onderzoek traden, vooral bij de koolstofbronnen maltose, lactose, galactose, natriumcitraat en natriumacetaat, scherpe verschillen op tusschen de vier onderzochte bakteriën, terwijl van de stoffen, die tegelijk als stikstof- en koolstofbron dienst moesten doen, vooral asparagine, ammoniumcitraat, ammoniumacetaat, duidelijke verschillen opleverden.

Door een afzonderlijke proef ging ik na, of het zetmeel wordt omgezet. Daartoe werd een geringe hoeveelheid ($\frac{1}{10}\%$) zetmeel in den voedingsbodem gebracht, die daarna in een Petri-schaal werd uitgegoten. Hierop werd een streep van het bakteriën-materiaal getrokken en na 1 of 2 dagen een jodiumoplossing over de plaat gegoten. Indien er

diastase gevormd is, blijkt dit uit het uitblijven der blauwkleuring in de omgeving van de streep.

Productie van zuren en alcaliën. Terecht heeft GOTTHEIL ¹⁾ de opmerking gemaakt, dat het nagaan van deze productie alleen waarde kan hebben en dat alleen dan vergelijkbare uitkomsten verkregen worden, wanneer de cultuurcondities zeer nauwkeurig bepaald en in de beschrijving vermeld worden.

De temperatuur, waarbij gecultiveerd wordt, moet nauwkeurig bekend zijn en constant gehouden worden ²⁾. De cultuurkolven moeten gelijk van vorm zijn en van een gelijke hoeveelheid voedingsvloeistof voorzien worden. De titratie moet na een nauwkeurig aangegeven tijd geschieden (ik titreerde steeds na 2 weken). Als cultuurvloeistoffen gebruikte ik :

A. Bouillon (bereid door 200 gram fijn gehakt vleesch zonder vet met 1 L. water langzaam te verwarmen totdat zij kookte, hieraan toe te voegen 0.5 % pepton Witte en 0.5 % keukenzout en daarna, zoo noodig, te neutralizeeren met soda-oplossing).

B. Bouillon + 5 % rietsuiker.

C. Vleeschextract Liebig 1 % + 1 % pepton + 1 % rietsuiker in gedistilleerd water.

D. Oplossing anorganische zouten + 1 % asparagine + 3 % glucose.

¹⁾ l. c. bl. 462.

²⁾ Aanvankelijk gebruikte ik een gewonen kwikregulateur ; deze leverde echter somtijds afwijkingen van 1° of zelfs 2°. Op raad van Prof. COHEN verving ik dezen door een toluolregulateur, waarmee veel betere resultaten verkregen werden.

E. Oplossing anorganische zouten + 1 % pepton + 1 % glucose.

F. Oplossing anorganische zouten + 0.1 % ammoniumsulfaat + 3 % glucose.

Als oplossing van anorganische zouten gebruikte ik: 0.025 % K_2HPO_4 + 0.01 % $MgSO_4$ + 0.01 % $CaCl_2$ + 0.01 % $NaCl$.

Het was aanvankelijk mijn voornemen geweest dezelfde vloeistoffen te gebruiken, die GOTTHEIL ¹⁾ gebruikt had, maar, wat de anorganische bestanddeelen betreft, was de concentratie van deze voor mijn bakteriën te sterk en van de door hem gebruikte combinaties van stikstof- en koolstofbronnen schenen mij ook slechts twee voor het doel geschikt (vloeistof I van GOTTHEIL = vloeistof C van mij, X = vloeistof D van mij).

Vóór de titratie werd de cultuurvloeistof, zoo noodig, gefiltreerd. Alcalibepaling vond plaats met $\frac{1}{10}$ n. H_2SO_4 , (indicator : lakmoes), zuurbepaling met $\frac{1}{10}$ n. KOH (indicator : lakmoes; phenolphthaleine en para-nitrophenol bleken bijna even geschikt).

Het is te begrijpen, dat de verkregen uitkomsten niet steeds volkomen gelijk waren en dat de eene keer wat meer zuur of alcali geproduceerd was dan de andere keer; toch waren de afwijkingen niet zoo groot, of het vermelden der uitkomsten kan tot de karakterizeering van de soort bijdragen. Zoo bleek steeds de zuurproductie het grootst bij Ps. Iridis, het zwakst bij Ps. Syringae, wat wellicht samenhangt

¹⁾ l. c.

met de omstandigheid, dat de eerstgenoemde facultatief anaëroob is en dus een vrij intens leven leidt onder de condities, bij welke de zuurvorming plaats vindt, d. i. bij geringe zuurstoftoetreding en dus onvolledige oxydatie der koolhydraten en alcoholen.

Productie van indol werd op de gewone wijze (met kalinitriet en zwavelzuur) nagegaan in twee weken oude culturen in bouillon en in bouillon + 5 % pepton ¹⁾.

Productie van zwavelwaterstof. Deze werd nagegaan op de eveneens bekende wijze, n.l. door boven in de cultuurbuisjes of -kolfjes een kleine reep filtreerpapier te hangen, die gedrenkt was in een oplossing van loodacetaat.

Productie van gassen. Nagegaan in gistingskolfjes. Ik gebruikte hiertoe steeds oplossingen van 0.025 % K_2HPO_4 + 1 % pepton in duinwater en voegde hieraan toe 3 % glucose, saccharose, lactose, galactose, maltose, manniet of glycerine, indien n.l. uit de auxanogrammen gebleken was, dat deze koolstofbronnen met pepton een geschikte voedingsstof waren. Om de mate van variabiliteit na te gaan, werd iedere bepaling van gasontwikkeling meermalen herhaald; gewoonlijk deed ik drie bepalingen. Het bleek hierbij, dat de intensiteit van gasontwikkeling nogal veranderlijk was.

Vorming van glycogeen en vet ging ik na in 4 dag oude culturen in Löfflersche bouillon.

¹⁾ Voorschrift van MORRIS; zie Günther. Einführung in das Studium der Bakteriologie 1898 bl. 63.

Op glycogeen werd met jodium (0.2 % J + 0.7 % JK in water), op vet met 1 % osmiumzuur gereageerd.

Weerstandsvermogen tegen uitdroging. Dit werd bepaald door gesterilizeerde filtreerpapierpjes in Petri-schaal te overgieten met een 24 uur oude, weelderige bouillon-cultuur van de bakterie, zóó, dat het papier er even door bevochtigd was. Dan werd de glasdoos in den thermostaat van 30° geplaatst. Na een dag of twee, soms reeds na één dag, was het papier volkomen droog; ik liet het dan nog een dag of vijf liggen en na verloop van dien tijd werd het in een kolfje steriele bouillon geworpen en nagegaan, of er troebeling ontstond. Geschiedde dit, dan werd een streep uit deze bouilloncultuur op vleesch-gelatine getrokken en gecontroleerd of het werkelijk de bewuste bakterie was, welke die troebeling had doen ontstaan.

Groeibelemmering door zuren. Met appelzuur en citroenzuur werd geëxperimenteerd en zooveel van deze stof aan neutralen bouillon toegevoegd, dat de reactie + 0.5, + 1.0, + 1.5, + 2.0, + 2.5 (% n) was. Of in den aangezuurden bouillon groei optreedt, is zeer afhankelijk van de qualiteit van het bakteriën-materiaal, dat erin geënt wordt. Deze bepalingen hebben dus m. i. geen groote waarde voor de differentiaal-diagnose.

§ 3. Beschrijving van *Pseudomonas Iridis* nov. spec.

Pathogene eigenschappen.

Deze zijn beschreven in Hoofdstuk II.

Morphologische eigenschappen.

In twee dag oude culturen in bouillon, bij 27°, zijn uitsluitend enkel- en dubbelstaafjes te vinden, geen ketens of zoëgloea; afmetingen: 0.9—1.5 μ lang, 0.8 μ breed (kleuring met aniline-fuchsine, insluiting in canadabalsem). Geeselkleuring gelukte goed met LÖFFLER's en PITFIELD's methode; de bacteriën bleken in het bezit te zijn van één langen polairen geesel en behoren dus tot het geslacht *Pseudomonas*. In een voedingsvloeistof, bevattende 0.25 % asparagine en 3 % glucose was na 24 uur de beweeglijkheid zeer groot en de geeselkleuring gelukte aan dat materiaal gemakkelijk. Geesels zeer lang: 10—12 μ . Sporenvorming niet waargenomen, ook niet in oude culturen.

Physiologische eigenschappen.

Uiterlijk der verschillende culturen. Gelatine wordt niet vervloeid. De coloniën komen op vleeschgelatine slechts langzaam op; na 3 dagen bij 27° liggen zij als ronde halfkogeltjes ter grootte van een speldeknop, grijs-groen van kleur op het substraat.

Op vleeschgelatine vindt sterke vastgroeiing aan het substraat plaats, zoodat bij 24 uur oude streepculturen het materiaal zich moeilijk laat afschrappen van de gelatine. Op dezen bodem ontwikkelt zich

een karakteristiek zure, niet onaangename geur. De culturen in bouillon, op gekookten aardappel en wortel leveren niets karakteristieks. Op moutagar en -gelatine is de groei sterk. In melk is de groei zwak en dienovereenkomstig vinden hierin slechts geringe uitwendig zichtbare veranderingen plaats.

Temperatuur. De eerste globale bepaling der maximum-temperatuur toonde, dat deze gelegen is tusschen 50° en 55° ; bij de meer nauwkeurige bepaling trad nog groei op na 10 minuten verwarming bij 51° , 52° , 53° . Het materiaal dat 10 minuten lang bij 53° gehouden was, toonde echter dat deze temperatuur de bakteriën reeds aanzienlijk benadeelde: de enting in sterielen bouillon deed na 24 uur slechts een zwakke troebeling ontstaan, die echter na nogmaals 24 uur sterk was toegenomen. Geen groei trad op na enting uit de buizen, die 10 minuten lang bij 54° en 55° gehouden waren; zelfs na 2 weken was hierin nog geen troebeling zichtbaar. Onder de vroeger aangegeven (zie § 2) omstandigheden ligt dus voor *Ps. Iridis* het maximum tusschen 53° en 54° . Nauwkeurige bepaling van de optimum-temperatuur werd niet gemaakt; deze zal ongeveer bij 30° liggen (snellere groei bij 30° dan bij 25°).

Zuurstofbehoefte. De bacterie is facultatief anaëroob. Steekculturen in vleeschgelatine of -agar toonen een sterken en gelijkmatigen groei tot op den bodem, ook wanneer de geheele cultuur door opgegoten gelatine of agar van de atmosfeer afgesloten is.

Ook de culturen in Petri-schalen onder glas toonden gelijke intensiteit van ontwikkeling onder het glas als daarbuiten.

Bij culturen in uitgekookten bouillon onder olie is de groei even sterk als in bouillon, die niet uitgekookt en van de atmosfeer niet afgesloten is.

Reductie van methyleenblauw. Ps. Iridis reduceert onder de vroeger vermelde condities het methyleenblauw zeer intens, zooals uit het volgende blijkt. Alle culturen vonden plaats in uitgekookte vloeistoffen onder olie bij 27°.

Bouillon + 0.002 % methyleenblauw; na 48 uur in de ontkleuring steeds volkomen.

Bouillon + 0.004 % methyleenblauw: na 48 uur is ook hiervan ^{weg}_{af} de ontkleuring voltooid.

De volgende voedingsstoffen werden alle gevoegd bij duinwater + 0.025 % K_2HPO_4 :

1°. 1 % pepton + 3 % manniet + 0.004 % methyleenblauw: snelle ontkleuring, die reeds na 2 dagen voltooid is;

2°. 0.25 % asparagine + 3 % saccharose + 0.004 % methyleenblauw: vrij langzame ontkleuring, die eerst na een dag of 14 geheel voltooid is;

3°. 0.1 % ammoniumsulphat + 3 % glucose + 0.004 % methyleenblauw: zeer langzame ontkleuring, die na 14 dagen nog slechts geringe vorderingen gemaakt heeft;

4°. 0.1 % glycocoll + 3 % glycerine + 0.004 % methyleenblauw: vrij langzame ontkleuring, die eerst na een dag of 14 geheel voltooid is;

6°. 0.1 % ureum + 3 % glucose + 0.002 % me-

thyleenblauw: vrij snelle ontkleuring, die na een dag of drie, vier voltooid is.

Reductie van nitraten. Nitraten worden door deze bacterie niet gereduceerd en dus ook niet geassimileerd. Noch in vleeschagar + 0.1 % KNO_3 , noch ook wanneer kalinitraat als eenige stikstofverbinding aanwezig is, vindt vorming van nitriet plaats; als koolstofverbindingen werden in het laatste geval hierbij gevoegd: saccharose, glucose, laevulose, manniet, dextrine, glycerine, natriumacetaat, natriumsuccinaat, doch bij geen van alle vond reductie plaats en derhalve ook geen groei.

Reductie van natriumseleniet. Snelle reductie. Streepculturen op vleeschagar + 0.05 % $\text{Na}_2 \text{SeO}_3$ vertoonen gewoonlijk reeds na 24 uur de steenroode kleur van het afgescheiden selenium.

Bepaling der bruikbare koolstof- en stikstofbronnen, door middel der auxanografische methode.

1°. Stoffen, die tegelijk stikstof en koolstof-bron kunnen zijn. Sterke groei door het ammoniumcitraat; zwakke, doch duidelijke door het ammoniumsuccinaat; twijfelachtige door het ammoniumacetaat en pepton »Cornélis«; geen groei trad op bij pepton »Witte«, caseïne, fibrine, albumine, proteïne, gluten, tyrosine, glycocoll, asparagine, ammoniumtartraat, ammoniumlactaat.

2°. Koolstofverbindingen in combinatie met verschillende stikstofverbindingen. Als stikstofverbindingen werden aan de agar-gelatine achtereenvolgens toegevoegd: pepton »Witte« (1%),

asparagine (0.25%), glycocoll (0.1%), ureum (0.1%).

Bij al deze stoffen ontstond een sterke groei bij toevoeging van saccharose, glucose, laevulose, maltose, galactose, manniet en glycerine, terwijl bij geen der stikstofbronnen eenige groei ontstond bij toevoeging van lactose, natriumcitraat, natriumtartraat, natriumlactaat en inuline.

Bij pepton als stikstofbron ontstond bovendien een duidelijke groei door toevoeging van natriumacetaat, natriumsuccinaat en dextrine; een twijfelachtige groei door natriumbutyraat;

bij asparagine ontstond een duidelijke groei door dextrine en natriumacetaat; geen groei door natriumsuccinaat en natriumbutyraat;

bij glycocoll ontstond een twijfelachtige groei door dextrine, natriumacetaat en natriumbutyraat en geen groei door natriumsuccinaat;

bij ureum eindelijk ontstond geen groei door dextrine, natriumacetaat, natriumbutyraat of natriumsuccinaat.

Deze uitkomsten heb ik in de volgende tabel samengesteld (+ = sterke of duidelijke groei, 0 = geen groei, \pm = twijfelachtige groei).

(N + C)-bronnen.		C-bronnen.	Pep- ton	As- para- gine	Gly- co- coll	Ure- um
Pepton »Witte«	o	Saccharose	+	+	+	+
Pepton »Cornélis«	±	Glucose	+	+	+	+
Caseine en Gluten-		Laevulose	+	+	+	+
caseine	o	Lactose	o	o	o	o
Albumine uit eiwit		Galactose	+	+	+	+
en uit dooier	o	Maltose	+	+	+	+
Fibrine	o	Dextrine	+	+	±	o
Proteïne	o	Inuline	o	o	o	o
Gluten	o	Manniet	+	+	+	+
Glycocoll	o	Glycerine	+	+	+	+
Asparagine	o	Natriumcitraat	o	o	o	o
Tyrosine	o	» tartraat	o	o	o	o
Ammoniumcitraat	+	» succinaat	+	o	o	o
» tartraat	o	» acetaat	+	+	±	o
» succinaat	+	» lactaat	o	o	o	o
» acetaat	±	» butyraat	±	o	±	o
» lactaat	o					

Diastase-productie komt bij deze bakterie niet voor. Het zetmeel wordt niet aangetast en heeft dus geen voedingswaarde.

Productie zuren en alcaliën. Bij volkomen aëroben groei (streepculturen) op vleeschagar + 5 % rietsuiker + lakmoes overweegt bij Ps. Iridis de zuurproductie, zooals blijkt uit het veranderen der paarse kleur in een roode in den omtrek van de streep, welke verkleuring reeds na 24 uur zeer intens is.

Bij cultuur in verschillende vloeistoffen blijkt deze bakterie in vrij geringe mate zuur te vormen uit koolhydraten en eenig alcali te produceeren door splitsing van eiwitten. Titratie, na een cultuur van 14 dagen in de volgende vloeistoffen, gaf de daarachter vermelde waarden

(deze zijn uitgedrukt in % normaal-oplossing, + = zuur, — = alcalisch).

Vloeistof B : + 2.0; + 1.7; + 1.8;

Vloeistof C : + 1.6; + 2.0; + 1.5;

Vloeistof D : + 1.3; + 1.5; + 1.5;

Vloeistof E : + 1.4; + 1.4; + 1.5;

Melk : + 1.4.

Productie van indol. Na 14 dagen bij 27° gaven de culturen in bouillon + 5 % pepton een sterke indolreactie; gewone bouillon (bevattende 0.5 % pepton) gaf slechts een zeer zwakke indolreactie.

Productie van zwavelwaterstof vindt plaats bij cultuur in gewonen bouillon. Reeds na tweemaal 24 uur beginnen de reepjes filtreerpapier, die in loodacetaat gedrenkt zijn, een donkeren tint aan te nemen en na nog eenige dagen zijn zij pikzwart.

Productie van gassen. In het algemeen is deze bacterie weinig constant, wat betreft het produceeren van gas; dit in aanmerking genomen kunnen wij toch *Ps. Iridis* rekenen tot de vrij intense gasproduceerders.

In vleeschagar-steekculturen ontstond na 2 à 3 dagen steeds vrij sterke ontwikkeling van gasspleten.

De volgende stoffen werden toegevoegd aan duinwater + 0.025 % K_2HPO_4 + 1 % pepton (de opgenoemde getallen geven in cM3 de quantiteit gas aan, die in het gistingskolfje ontwikkeld werd; telkens werden drie bepalingen gedaan).

3 % saccharose : 0; 1.0; 0.

3 % glucose : 1.3; 0; 0.

3 % maltose : 0.5; 0.6; 0.8.

3 % galactose : 0.4; 0.6; 0.4.

3 % manniet : 1.0; 1.2; 1.0.

3 % glycerine : 0; 0; 0.

(lactose wordt door Ps. Iridis niet verwerkt).

Productie van glycogeen. Glycogeen laat zich in 2 dag oude bouillon- zoowel als in saccharose-peptonculturen met jodium aantoonen.

Productie van vet werd niet waargenomen. In 4 dag oude bouillonculturen laat zich geen vet aantoonen; evenmin in saccharose-peptonculturen.

Weerstand tegen uitdroging. De bakterie is bestand tegen uitdroging; het uitgedroogde materiaal heeft reeds na 24 uur een sterke troebeling doen ontstaan in bouillon.

Invloed van zuren. Na 24 uur is troebeling zichtbaar in den bouillon, die met citroenzuur is aangezuurd tot + 0.5 % n; na nogmaals 24 uur is somtijds ook in den bouillon van + 1.0 % n. groei zichtbaar; somtijds blijft deze echter uit. Nooit werd groei waargenomen in den bouillon van 1.5 % n.; 2.0 % n. of 2.5 % n. Zelfs na 2 maanden was hierin nooit troebeling zichtbaar. De culturen, waarin appelzuur aan den bouillon was toegevoegd, gedroegen zich evenals die met citroenzuur.

Opname van kleurstoffen. Wat betreft de kleurbaarheid vertoonde de bakterie niets merkwaardigs; GRAM's methode leverde algeheele ontkleuring.

§ 4. Beschrijving van *Bacillus omnivorus* nov. spec.

Pathogene eigenschappen.

Deze zijn beschreven in Hoofdstuk II.

Morphologische eigenschappen.

In twee dag oude bouillonculturen (27°) zijn meest enkelstaafjes aanwezig, weinig dubbelstaafjes en zeer weinig ketens van 3 of 4 individuen. Geen zoöglöea. Afmetingen der staafjes zeer variabel: $1.2-3.0 \mu$ lang, $0.4-0.8 \mu$ breed (meting na kleuring met gentiaanviolet en insluiting in canadabalsem).

In 24 uur oude culturen in duinwater + 0.025% kalifosphaat + 0.25% asparagine was de beweeglijkheid zeer groot. Geesels lieten zich goed kleuren met Löffler's methode (met gentiaanviolet-aniline): de bacteriën zijn in het bezit van vrij talrijke (een 10-tal) lange geesels en behooren dus tot het geslacht *Bacillus*. Lengte der geesels ongeveer 15μ .

Physiologische eigenschappen.

Uiterlijk der verschillende culturen. De gelatine wordt vervloeid. In sommige media (vleeschgelatine, bouillon, pepton-rietsuiker-oplossing) vindt sterke bezinkselvorming plaats: twee dagen na uitzaaïing op vleeschgelatine (cultuur bij 27°) is in de flink ontwikkelde colonies steeds een vrij groot quantum grof bezinksel gevormd; op niet geneutralizeerde (zwak zure) vleeschgelatine vindt dit in sterkere mate plaats dan op zwak-alcalische. Zeer karakteristiek voor deze bacterie is de walgelijke

stank, die ontwikkeld wordt op verschillende eiwit-houdende voedingsbodems, vooral op levende plantendeelen, b.v. aardappel, wortel, raap, radijs, maar verder ook op gesterilizeerde aardappels, minder sterk maar toch nog vrij intens in melk, bouillon, op gekookten wortel. Soms begint de ontwikkeling van dezen stank eerst vrij laat, b.v. na 5, of zelfs eerst na 9 of 10 dagen. Op moutagar en moutgelatine vindt slechts zwakke groei plaats. In melk daarentegen is de groei zeer krachtig en sterke coagulatie der caseïne vindt hierbij plaats: in culturen in reageerbuisjes is na een dag of vijf (27 °) de caseïne gestold als een hard cilindertje, dat omgeven wordt door een heldere vloeistof.

Temperatuur. Na 10 minuten verblijf in een temperatuur van 45 ° is geen nadeelige invloed te bespeuren; overenting met een groot platinaoogje in sterielen bouillon doet hierin na 24 uur een sterke troebeling ontstaan, na 10 minuten verblijf in een temperatuur van 50° zijn nog niet alle individuen van een 24 uur oude bouilloncultuur gedood; overenting doet nog een zwakke groei ontstaan; door 10 minuten verblijf in 51 ° is het materiaal echter volkomen gedood. Onder de vroeger beschreven omstandigheden ligt dus het maximum tusschen 50° en 51°.

Nauwkeurige bepaling van het optimum werd niet gedaan; bij 27° is de groei zeer krachtig.

Zuurstofbehoefte. Al kunnen wij *B. omnivorus* niet rekenen tot de exquisiet obligaat aëroben, zoo wordt toch de groei reeds verzwakt door een geringe vermindering der normale vrije zuurstoftoetreding.

Steekculturen in vleeschagar vertoonen vanaf de oppervlakte een vrij snelle afname van den groei; deze gaat echter tot op den bodem door, al is hij hier dan ook zeer zwak. In uitgekookten bouillon onder olie wordt eenige dagen na enting troebeling zichtbaar, maar blijft zwak.

Reductie van methyleenblauw. Het reductie-vermogen van dezen bacil voor methyleenblauw is vrij intens en bij sommige voedingscondities zelfs zeer sterk. Alle culturen vonden weer plaats in uitgekookte vloeistoffen onder olie bij 27°.

Bouillon + 0.002% methyleenblauw: na drie dagen is meestal nog een zwak blauw tintje over, dat aan 't einde van den vierden dag steeds geheel verdwenen is. Soms is de ontkleuring reeds na drie dagen volkomen.

Bouillon + 0.004% methyleenblauw: aan het einde van den vierden dag is de ontkleuring ook hier voltooid.

De volgende voedingsstoffen werden alle opgelost in duinwater + 0.025% K_2HPO_4 ;

1°. 1% pepton + 3% manniet + 0.004% methyleenblauw: zeer snelle ontkleuring, die gewoonlijk binnen twee maal 24 uur reeds volkomen is;

2°. 0.25% asparagine + 3% saccharose + 0.004% methyleenblauw: zeer snelle ontkleuring, die na twee maal 24 uur voltooid is;

3°. 0.1% ammoniumsulfaat + 3% glucose + 0.004% methyleenblauw: langzame ontkleurig die na 14 dagen nog niet voltooid is;

4°. 0.1% glycocoll + 3% glycerine + 0.004%

methyleenblauw: langzame ontkleuring, die na 14 dagen nog niet voltooid is;

6°. 0.1% ureum + 3% glucose + 0.002% methyleenblauw: zeer langzame ontkleuring, die na 14 dagen slechts zeer geringe vorderingen gemaakt heeft.

Reductie van nitraten vindt zoowel plaats op vleesch-agar + 0.1% KNO_3 , en op duinwaterkaliphosphaat-agar, waarin 0.1% KNO_3 + 3% rietsuiker is gebracht, als in een vloeistof bestaande uit duinwater + 0.025% K_2HPO_4 + 0.1% KNO_3 + 3% rietsuiker. Na 24 uur is reeds een sterke nitrietvorming te constateeren. Dat de nitraatreductie deze bacterie wel degelijk als stikstofbron dient, blijkt uit de hieronder meegedeelde uitkomsten der auxanogrammen en bovendien uit den zeer rijken groei, die na 24 uur is opgetreden in de twee laatstgenoemde voedingsmedia, waarin KNO_3 de eenige aanwezige stikstofverbinding is.

Reductie van natriumseleniet. *Bacillus omnivorus* reduceert Na_2SeO_3 snel. Streepculturen op vleeschagar + 0.05% Na_2SeO_3 vertoonen na één of twee dagen de steenroode kleur van het selenium.

Bepaling der bruikbare koolstof- en stikstofbronnen door middel der auxanographische methode.

1°. Stoffen, die tegelijk stikstof- en koolstofbron zijn. Sterke groei ontstond door asparagine, natriumcitraat en natriumsuccinaat, een twijfelachtige door proteïne en ammoniumacetaat; geen groei ontstond door de volgende stoffen: pepton »Witte«, pepton »Cornélis«, caseïne, albumine, fibrine, gluten, gly-

cocoll, tyrosine, ammoniumtartraat, ammoniumlactaat.

2°. Koolstofverbindingen in combinatie met verschillende stikstofverbindingen. Als stikstofverbindingen werden aan de agar-gelatine achtereenvolgens toegevoegd: pepton »Witte« (1%), asparagine (0.25 %), kaliumnitraat (0.1 %) glycocoll (0.1 %).

Bij al deze stoffen ¹⁾ ontstond een sterke of althans duidelijke groei door toevoeging van : saccharose, glucose, laevulose, galactose, manniet en glycerine; bij geen van alle ontstond groei door toevoeging van : maltose, dextrine, inuline, natriumtartraat en natriumbutyrat.

Bij pepton als stikstofbron ontstond bovendien een duidelijke groei door lactose, natriumcitraat, natriumsuccinaat; een twijfelachtige groei door het natriumacetaat; geen groei door het natriumlactaat.

Bij het asparagine vond bovendien duidelijke bevordering van den groei plaats door: lactose, en op twijfelachtige wijze door het natriumcitraat, natriumsuccinaat en natriumlactaat; geen bevordering door het natriumcitraat.

Bij het kaliumnitraat ontstond bovendien een duidelijke groei door natriumcitraat en natriumsuccinaat en geen groei door het natriumlactaat.

Bij het glycocoll ontstond bovendien een twijfelachtige groei door: lactose, natriumacetaat en natri-

¹⁾ Asparagine veroorzaakt bij *B. omnivorus* reeds zonder toevoeging van een extra koolstofbron groei, zooals hierboven onder 1°, werd uiteen gezet; door toevoeging van een koolstofverbinding aan de asparagine kan dus alleen van bevordering van de groei-intensiteit, niet van een ontstaan van groei sprake zijn.

umcitraat, geen groei door natriumsuccinaat en natriumlactaat.

Deze uitkomsten heb ik in de volgende tabel samengesteld (+ = duidelijk of sterke groei; 0 = geen groei; ± = twijfelachtig):

(N + C)-bronnen.		C-bronnen.	Pep- ton	As- para- gine	Gly- co- coll	Kali- ni- traat
Pepton »Witte«	0	Saccharose	+	+	+	+
Pepton »Cornélis«	0	Glucose	+	+	+	+
Caseine en Gluten-		Laevulose	+	+	+	+
caseine	0	Lactose	+	+	±	±
Albumine uit eiwit		Galactose	+	+	+	+
en uit eidooier	0	Maltose	0	0	0	0
Fibrine	0	Dextrine	0	0	0	0
Proteïne	±	Inuline	0	0	0	0
Gluten	0	Manniet	+	+	+	+
Glycocoll	0	Glycerine	+	+	+	+
Asparagine	+	Natriumcitraat	+	±	±	+
Tyrosine	0	» tartraat	0	0	0	0
Ammoniumcitraat	+	» succinaat	+	±	0	+
» tartaat	0	» acetaat	±	0	±	±
» succinaat	+	» lactaat	0	±	0	0
» acetaat	±	» butyraat	0	0	0	0
» lactaat	0					

Diastase-produktie komt bij *B. omnivorus* niet voor. Het zetmeel wordt niet aangetast en heeft dus geen voedingswaarde voor deze bakterie.

Productie van zuren en alcaliën. Bij volkomen aëroben groei (streepcultuur) op vleeschagar + 5% rietsuiker + lakmoes overweegt bij *B. omnivorus* de zuurproductie: de paarse kleur van den voedingsbodem is na 24 uur bij 27° in den omtrek van de streep veranderd in een roode.

Bij cultuur in verschillende vloeistoffen vertoont zich een weinig-intense zuurvorming door oxydatie van koolhydraten, ook de alcalivorming (splitsing van eiwitten, aminen etc.) is niet sterk.

Titratie na 14 dagen cultuur bij 27° in de volgende vloeistoffen gaf de daarachter vermelde waarden (deze zijn uitgedrukt in % normaal-oplossing, — = zuur, — = alcalisch):

Vloeistof A: — 1.5; — 1.9; — 2.3.

Vloeistof B: + 0.9; + 0.8; + 0.7.

Vloeistof C: + 0.6; + 0.7; + 0.5.

Vloeistof D: + 0.5; + 0.3; + 0.3.

Vloeistof E: + 0.3; + 0.3; + 0.4.

Vloeistof F: + 0.7; + 0.2; + 0.3.

Melk: zwak alcalisch of amphoter.

Productie van indol werd niet waargenomen. De indolreactie trad niet op in 2 weken oude culturen in gewonen bouillon en evenmin in dergelijke culturen in bouillon + 5% pepton.

Productie van zwavelwaterstof heeft niet plaats bij cultuur in bouillon; zelfs na 14 dagen zijn de in loodacetaat gedrenkte papiertjes nog volkomen wit.

Productie van gassen. *B. omnivorus* produceert bij voeding met verschillende koolstofbronnen gas, maar toont zich hierin vrij inconstant.

In vleeschagar-steekculturen trad steeds een geringe gasontwikkeling op: enkele gasspleten ontstonden in den loop der eerste twee, drie dagen (27°); bij langere cultuur verdwenen deze weer.

De volgende stoffen werden toegevoegd aan duin-

water + 0.025% K_2HPO_4 + 1% pepton (de opgegeven getallen geven in c. M³ de quantiteit gas aan, die in het gistingskolfje ontwikkeld werd; telkens werden drie bepalingen gedaan):

3% saccharose: 0.4; 0; 0.2.

3% glucose: 0; 0; 0.1.

3% lactose: 0.4; 0.5; 0.

3% galactose: 0; 0.5; 0.4.

3% manniet: 0.2; 0.8; 0.6.

3% glycerine: 0; 0; 0.1.

(maltose wordt niet verwerkt).

Productie van glycogeen. Glycogeen laat zich in 2 dag oude bouillon-, zoowel als in saccharose-pepton-culturen met jodium makroskopisch aantoonen.

Productie van vet. Vet-productie laat zich in bouillonculturen niet aantoonen; evenmin in saccharose-pepton-culturen.

Weerstandsvermogen tegen uitdroging. De bacterie is bestand tegen uitdroging; het uitgedroogde materiaal heeft in bouillon na 24 uur reeds een sterke troebeling doen ontstaan.

Invloed van zuren. Na 1 à 3 dagen treedt groei op in den bouillon, die met citroenzuur is aanzuurd totdat de reactie + 0.5% n. is; een enkele maal trad ook nog groei op in den bouillon + citroenzuur van 1.0% n.; in de overige culturen, met hooger zuurgehalte, werd nooit troebeling waargenomen, zelfs niet na 2 weken cultuur. Appelzuur had gelijke uitwerking als citroenzuur.

Opname van kleurstoffen. Wat betreft de

kleurbaarheid vertoonde de bakterie niets merkwaardigs. Gram's methode bewerkte algeheele ontkleuring.

§ 5. Beschrijving van *Bacillus atrosep-ticus* nov. spec.

Pathogene eigenschappen.

Deze zijn beschreven in Hoofdstuk III.

Morphologische eigenschappen.

In twee dag oude bouillonculturen (27 °) zijn bijna uitsluitend enkelstaafjes te vinden, zeer weinig dubbelstaafjes; afmetingen nogal variabel: 0.8 μ —1.6 μ lang, 0.2—0.4 μ breed (meting na kleuring met gentiaanviolet en insluiting in canadabalsem). Vele zoöglœa van 4—10 stuks. De bakterie is zeer beweeglijk in 24 uur oude culturen in duinwater + 0.025 % kaliphosphaat + 0.25 % asparagine (27 °); aan dergelijk materiaal gelukte gemakkelijk geesekleuring met LÖFFLER's methode (met gentiaanviolet-aniline); lengte der geesels ongeveer 10—15 μ .

Physiologische eigenschappen.

Uiterlijk der verschillende culturen. De gelatine wordt vervloeid; de intensiteit, waarmee dit geschiedt, is echter zeer variabel. Op zwak zure (niet geneutraliseerde) vleeschgelatine vindt geen vervloeiing plaats, maar ook op zwak alcalische is zij soms zeer gering. Misschien is er bij deze bakterie een relatief sterk alcalische reactie noodig voor de werking van het tryptische enzym; niet onmogelijk zou het ook zijn, dat nog andere verschillen in de

samenstelling van de vleeschgelatine influenceeren op de intensiteit der vervloeiing.

Op moutagar en moutgelatine is de groei zeer zwak. In melk vindt sterke coagulatie van de caseïne plaats, die bij de culturen in reageerbuizen in den vorm van een hard cilindertje gestold wordt.

Temperatuur. Na 10 minuten verblijf in een temperatuur van 50° is geen nadeelige invloed te bespeuren, overenting met een platinoogje uit de aldus behandelde bouillon-cultuur in sterielen bouillon doet hierin na 24 uur een weelderige groei ontstaan.

Na 10 minuten verblijf in een temperatuur van 51° zijn nog niet alle individuen van de 24 uur oude bouillon-cultuur gedood; overenting doet echter eerst na 2 dagen bij 27° troebeling ontstaan. Een verblijf van 10 minuten in 52° doodt alle individuen. Het maximum ligt dus onder de vroeger beschreven omstandigheden tusschen 51° en 52° . Nauwkeurige bepaling van het optimum vond niet plaats; bij 27° is de groei zeer krachtig.

Zuurstofbehoefte. Al mag *B. atrosepcticus* ook niet exquisiet obligaat aëroob genoemd worden, zoo wordt toch de groei reeds aanmerkelijk verzwakt door een geringe vermindering der vrije zuurstoftoetreding. Steekculturen in vleeschagar vertoonen van af de oppervlakte een vrij snelle afname van den groei; deze groei gaat echter tot op den bodem van den steek door, al is hij hier dan ook zeer zwak. In uitgekookten bouillon onder olie wordt een paar dagen na enting een zwakke troebeling zichtbaar, die echter zwak blijft.

Reductie van methyleenblauw. Het reducerend vermogen voor methyleenblauw is zwak; in alle onderzochte vloeistoffen ging de ontkleuring, indien deze al plaats vond, slechts langzaam voort.

1°. Bouillon + 0.002% methyleenblauw: na 24 uur is slechts een zeer geringe kleurvermindering te bespeuren, na 4 dagen is de kleur nog lichtblauw; gewoonlijk is eerst omstreeks den achtsten dag de ontkleuring voltooid.

Bouillon + 0.004% methyleenblauw wordt ongeveer even snel ontkleurd als de vorige; op den vierden dag is gewoonlijk de kleur van beide oplossingen gelijk en ook hier is omstreeks den achtsten dag de ontkleuring voltooid.

De volgende voedingsstoffen werden alle opgelost in duinwater + 0.025% K_2HPO_4 :

2°. 1% pepton + 3% manniet + 0.004% methyleenblauw: vrij langzame ontkleuring, die na een dag of 6—8 geheel voltooid is;

3° 0.25% asparagine + 3% saccharose + 0.004% methyleenblauw: langzame ontkleuring, die na 14 dagen nog niet voltooid is;

4°. 0.1% ammoniumsulfaat + 3% glucose + 0.004% methyleenblauw: na 14 dagen is nog geen vermindering der kleurintensiteit te bespeuren;

5°. 0.1% glycocoll + 3% glycerine + 0.004 methyleenblauw: na 14 dagen is nog geen vermindering der kleurintensiteit te bespeuren.

6° 0.1% ureum + 3% glucose + 0.002% methyleenblauw: na 14 dagen is nog geen vermindering der kleurintensiteit te bespeuren.

Reductie van nitraten vindt zoowel plaats in vleeschagar + 0.1% KNO_3 , en in agar, waarin 0.1% KNO_3 + 3% rietsuiker is gebracht, als in een nitraathoudende vloeistof, bestaande uit duinwater + 0.025% K_2HPO_4 + 0.1% KNO_3 + 3% saccharose. Na 24 uur is reeds sterke nitrietvorming te constateeren. Dat ook deze bakterie door reductie der nitraten de stikstof assimileert, blijkt uit den sterken groei op voedingsbodems, waar KNO_3 de eenige stikstofbron is, o. a. bij een deel der hieronder meegedeelde auxanogrammen.

Reductie van natriumseleniet. Natriumseleniet wordt snel gereduceerd. Na één of hoogstens twee dagen is de steenroode kleur van het afgescheiden Se zichtbaar bij streepculturen op vleeschagar + 0.05 % Na_2SeO_3 .

Bepaling der bruikbare stikstof- en koolstofbronnen door middel der auxanographische methode.

1°. Stoffen, die te gelijk stikstof- en koolstofbron zijn. Sterke groei ontstond door asparagine en ammonium-succinaat, een twijfelachtige door ammoniumacetaat en pepton »Cornélis«; geen groei door pepton »Witte«, caseïne, fibrine, albumine, proteïne, gluten, glycoll, tyrosine, ammoniumcitraat, ammoniumtartraat en ammoniumlactaat.

2°. Koolstofverbindingen in combinatie met verschillende stikstofverbindingen. Als stikstofverbindingen werden aan de agar-gelatine achtereenvolgens toegevoegd: pepton »Witte« (1 %), asparagine (0.25 %), kaliumnitraat (0.1 %) en glycoll (0.1 %).

Bij al deze stoffen ¹⁾ ontstond een sterke of althans duidelijke groei door toevoeging van: saccharose, glucose, laevulose, manniet, glycerine en natrium-succinaat. Bij geen van alle ontstond groei door: maltose, dextrine, inuline, natriumcitraat, natrium-tartraat en natriumlactaat. Bij alle ontstond een zeer zwakke groei door de galactose.

Bij pepton als stikstofbron ontstond bovendien een sterke groei door de lactose, een zwakke groei door het natriumacetaat, geen groei door het natrium-butyraat;

bij de asparagine vond bovendien sterke bevordering van den groei plaats door de lactose en zeer zwakke bevordering van groei door het natrium-acetaat en het natriumbutyraat;

bij het kaliumnitraat ontstond bovendien sterke groei door de lactose, geen groei door het natrium-acetaat en natriumbutyraat;

bij het glycocoll geen groei door de lactose, het natriumacetaat en het natriumbutyraat.

Deze uitkomsten zijn in de volgende tabel samengesteld (+ = duidelijke of sterke groei; \pm = twijfelachtig; 0 = geen groei):

Diastase-productie komt bij *B. atrosepticus* niet voor; het zetmeel wordt niet omgezet en heeft dus geen voedingswaarde voor deze bakterie.

¹⁾ Asparagine veroorzaakt bij *B. atrosepticus* reeds zonder toevoeging van een extra koolstofverbinding groei, zooals hierboven onder 10. werd aangegeven; door toevoeging van een koolstofverbinding aan de asparagine kan dus alleen van bevordering van groeiintensiteit niet van een ontstaan van groei sprake zijn.

(N + C)-bronnen.		C-bronnen.	Pep- ton	As- para- gine	Kali- umni- traat.	Gly- co- coll
Pepton »Witte«	o	Saccharose	+	+	+	+
Pepton »Cornélis«	±	Glucose	+	+	+	+
Caseine en gluten- caseine	o	Laevulose	+	+	+	+
Albumine uit eiwit		Lactose	+	+	+	o
en uit eidooier	o	Galactose	±	±	±	±
Fibrine	o	Maltose	o	o	o	o
Proteïne	o	Dextrine	o	o	o	o
Gluten	o	Inuline	o	o	o	o
Glycocoll	o	Manniet	+	+	+	+
Asparagine	+	Glycerine	+	+	+	+
Tyrosine	o	Natriumcitraat	o	o	o	o
Ammoniumcitraat	o	» tartraat	o	o	o	o
» tartraat	o	» succinaat	+	+	+	+
» succinaat	+	» acetaat	±	±	o	o
» acetaat	±	» lactaat	o	o	o	o
» lactaat	o	» butyraat	o	±	o	o

Productie van zuren en alcaliën. Bij volkomen aëroben groei (streepcultuur) op vleeschagar + 5 % rietsuiker + lakmoes overweegt de zuurproductie: de paarse kleur van den voedingsbodem is, na 24 uur bij 27°, in den omtrek van de streep veranderd in een roode.

Bij cultuur in verschillende vloeistoffen vertoont zich een weinig-intense zuurvorming door omzetting van koolhydraten; ook de alcalivorming (plitsing van eiwitten, aminen, enz.) is niet sterk.

Titratie na 14 dagen cultuur bij 27° in de volgende vloeistoffen gaf de daarachter vermelde waarden (deze zijn uitgedrukt in % normaal oplossing, + = zuur, — = alcalisch).

vloeistof A: — 1.4; — 1.5; — 1.2;

vloeistof B: + 1.0; + 0.8; + 0.8;

vloeistof C: + 0.6; + 1.0; + 0.8;

vloeistof D: + 0.4; + 0.3; + 0.3;

vloeistof E: + 0.4; + 0.4; + 0.4;

vloeistof F: + 0.6; + 0.2; + 0.3;

melk: amphoter.

Productie van indol werd niet waargenomen. De indolreactie trad niet op in 2 weken oude culturen in bouillon of in bouillon + 5 % pepton.

Productie van zwavelwaterstof heeft niet plaats bij cultuur in bouillon; na 14 dagen zijn de in loodacetaat gedrenkte papiertjes nog volkomen wit.

Productie van gassen. *B. atrosepcticus* is een zwakke gasproducent; alleen indien manniet als koolstofbron aanwezig is, is de gasvorming vrij sterk, anders is zij gering of ontbreekt zij.

In vleeschagar-steekculturen trad steeds een zeer geringe gasontwikkeling op: een of twee zeer kleine gasspleetjes ontstonden na twee of drie dagen op den bodem van de buis, eenige dagen later waren zij gewoonlijk weer verdwenen.

De volgende stoffen werden toegevoegd aan duinwater + 0.025% K_2HPO_4 + 1% pepton (de opgegeven getallen geven in c. M³ de quantiteit gas aan, die in het gistingskolfje ontwikkeld werd; telkens werden drie bepalingen gedaan):

3% saccharose: 0.1; 0; 0.2.

3% glucose: 0; 0; 0.1.

3% lactose: 0; 0; 0.

3% manniet: 0.4; 0.6; 0.3.

3% glycerine: 0; 0; 0.

(galactose wordt niet verwerkt).

Productie van glycogeen. Glycogeen laat zich in twee dag oude bouillonculturen met jodium makroskopisch aantoonen.

Productie van vet laat zich in bouillonculturen niet aantoonen; evenmin in saccharose-peptonculturen.

Weerstandsvormogen tegen uitdroging. *B. atrosepticus* is niet bestand tegen uitdroging; het uitgedroogde materiaal deed nooit in bouillon eenige troebeling ontstaan.

Invloed van zuren. Na 1 tot 3 dagen treedt gewoonlijk troebeling op in den bouillon, die met citroenzuur is aangezuurd totdat de reactie 0.5% n. was; in den bouillon + citroenzuur van 1% n. werd nooit groei waargenomen, evenmin in die van 1.5% n. en 2% n. Appelzuur had denzelfden invloed als citroenzuur.

Opname van kleurstoffen. Hierin vertoonde de bakterie niets karakteristieks; Gram's methode leverde geheele ontkleuring.

§ 6 Beschrijving van *Pseudomonas Syringae* nov. spec.

Pathogene eigenschappen.

Deze zijn beschreven in Hoofdstuk IV.

Morphologische eigenschappen.

In twee dag oude bouillonculturen (27°) zijn enkel- en dubbelstaafjes aanwezig, geen ketens of zoëgloea;

in 24 uur oude culturen in duinwater + 0.025% K_2HPO_4 + 0.25% asparagine zijn vele ketens aanwezig van 4---6 individuen. Staafjes slank en smal; in de genoemde bouilloncultuur waren de afmetingen 1.6μ --- 3.2μ lang, 0.2μ --- 0.4μ breed, (kleuring met gentiaanviolet, meting na insluiting in canadabalsem). In de asparaginecultuur is de beweeglijkheid zeer groot en laten zich de geesels gemakkelijk kleuren, zoowel met Pittfield's als met Zettnow's of Löffler's methode; lengte der geesels 7μ --- 10μ .

Physiologische eigenschappen.

Uiterlijk der verschillende culturen. Gelatine wordt snel vervloeid; aanvankelijk vormt zich in de helder-vervloeide, later troebele vleesch-gelatine geen bezinksel; dit treedt eerst op den derden of vierden dag op. De colonies op vleesch-gelatine gelijken zeer op die van *Ps. fluorescens* (FLÜGGE) Mig. (= *Bacillus fluorescens liquefaciens*, FLÜGGE); de fluorescentie schijnt hier echter geringer. Op asparaginehoudende voedingsbodems of in asparaginehoudende vloeistoffen is de fluorescentie echter zeer opvallend (b.v. in vloeistof D, zie Hoofdstuk V).

Culturen op gekookten aardappel en wortel toonen niets karakteristieks. Sterke groei vindt plaats op mout-gelatine. Ook in melk is de groei sterk; het caseïne wordt neergeslagen, doch slechts zwakke coagulatie vindt plaats.

Temperatuur. Bij 10 minuten verblijf in een temperatuur van 49° is geen nadeelige invloed te bespeuren aan materiaal van een 24 uur oude bouilloncultuur; overenting met een groot platina-

oogje in sterielen bouillon doet hierin na één dag cultuur bij 27° sterke troebeling ontstaan. Ook na 10 minuten verblijf in een temperatuur van 50° zijn nog niet alle individuen gedood: bij overenting is na één dag een zeer zwakke troebeling ontstaan. 10 Minuten verblijf in 51° heeft echter alle individuen van de 24 uur oude bouilloncultuur gedood. Onder de vroeger beschreven omstandigheden ligt dus de maximumtemperatuur tusschen 50° en 51°.

Nauwkeurige bepaling van het optimum vond niet plaats; bij 27° is de groei zeer snel.

Zuurstofbehoefte. *Ps. Syringae* is obligaat-aëroob. Zoowel bij de steekculturen in vleeschagar als bij die in vleeschgelatine of pepton-rietsuiker-agar is alleen aan de oppervlakte en hoogstens tot eenige m.M. onder de oppervlakte groei te bespeuren; over de rest van den steek is geen spoor van groei. Geheel overeenkomstig hiermee treedt in den uitgekookten bouillon onder olie, zelfs wanneer een groote hoeveelheid materiaal ingebracht is, geen troebeling en geen spoor van groei op. Dat in dergelijke culturen toch leven heerscht, blijkt uit de soms vrij intense reductieverschijnselen, die er in plaats vinden. (Zie hieronder).

Reductie van methyleenblauw. Voor obligaat-aëroben is de inrichting van onze reductieproeven in zooverre niet doeltreffend, dat de resultaten niet een juist beeld geven van het reductievermogen. Immers de groei van zulke bacteriën is onder olie een zeer geringe en dienovereenkomstig is de intensiteit van de reductie geringer dan bij normaal leven, d. i. bij vrije zuurstoftoetreding. Zooals ik

echter reeds uiteenzette, zijn bij vrije zuurstoftoetreding de resultaten altijd zeer variabel en daarom practisch onbruikbaar voor de beschrijving. In aanmerking genomen de geringe groei en vermenigvuldiging van *Ps. Syringae* in uitgekookte vloeistoffen onder olie, moeten wij uit de reductieproeven afleiden, dat deze soort een sterk reductievermogen voor methyleenblauw heeft.

1°. Bouillon + 0.002% methyleenblauw; ontkleuring na twee of drie dagen voltooid.

Bouillon + 0.004% methyleenblauw; ontkleuring na drie of vier dagen voltooid.

De volgende voedingsstoffen werden alle opgelost in duinwater + 0.025% K_2HPO_4 .

2°. 1 % pepton + 3% manniet + 0.004% methyleenblauw: vrij snelle ontkleuring, die na een dag of vier gewoonlijk voltooid is.

3°. 0.25% asparagine + 3% saccharose + 0.004% methyleenblauw: langzame ontkleuring, die na 14 dagen nog niet voltooid is.

4°. 0.1% ammoniumsulfaat + 3% glucose + 0.004% methyleenblauw: zeer langzame ontkleuring; na 14 dagen is nog geen duidelijke vermindering van kleur te constateeren.

5°. 0.1% glycocoll + 3% glycerine + 0.004% methyleenblauw: zeer snelle ontkleuring, die na vier dagen geheel voltooid is.

6°. 0.1% ureum + 3% glucose + 0.002% methyleenblauw: zeer snelle ontkleuring, die na een dag of vier voltooid is.

Reductie van nitraten. Slechts onder be-

paalde omstandigheden worden nitraten gereduceerd. Naar het mij voorkomt worden zij alleen dan aangestast, wanneer geen andere, beter geschikte stikstofbronnen ter beschikking staan. In vleeschagar + 0.1% KNO_3 is na 24 uur bij 27° ondanks den weelderigen groei nog geen nitriet gevormd en bij voortgezette cultuur kon ik ook na 6 dagen nog geen nitriet ontdekken; op 3% rietsuiker + 0.1% KNO_3 -agar is na 24 uur bij 27° eveneens een flinke groei ontstaan, doch rijkelijk nitriet gevormd; hetzelfde is het geval bij cultuur in een vloeistof die 3% rietsuiker bevat en als eenige stikstofbron 0.1% KNO_3 . In de auxanogrammen, waarbij 0.1% KNO_3 als stikstofbron aanwezig was, werd nitriet gevormd bij alle koolstofbronnen, die groei deden ontstaan. (Zie hieronder).

Reductie van natriumseleniet. Het natriumseleniet wordt langzaam gereduceerd. Gewoonlijk eerst na een dag of drie, vier begint de roode kleur van het afgescheiden Se zichtbaar te worden bij streepculturen op vleeschagar + 0.05% Na_2SeO_3 .

Bepaling der bruikbare stikstof- en koolstofbronnen door middel der auxanographische methode.

1°. Stoffen, die tegelijk stikstof en koolstofbron zijn. Duidelijke groei ontstaat door ammoniumcitraat, ammoniumsuccinaat en ammoniumacetaat; een twijfelachtige door het asparagine en het gluten; geen groei ontstaat door pepton »Witte«, pepton »Cornélis«, caseïne en gluten-caseïne, albumine uit eiwit en uit eidooier, fibrine, proteïne, glycocoll, tyrosine, ammoniumtartraat en ammoniumlactaat.

2°. Koolstofverbindingen in combinatie met verschillende stikstofverbindingen. Als stikstofverbindingen werden aan de agar-gelatine achtereenvolgens toegevoegd: pepton »Witte« (1 %), asparagine (0.25 %), kaliumnitraat (0.1 %) en glycocoll (0.1 %).

Bij al deze stoffen ontstond een sterke of althans duidelijke groei door toevoeging van: saccharose, glucose, laevulose, galactose, manniet, glycerine, natriumcitraat, natriumsuccinaat, natriumacetaat, natriumlactaat en natriumbutyraat. Bij geen van alle ontstond eenige groei bij toevoeging van: lactose, maltose, dextrine, inuline en natriumtartraat.

Deze uitkomsten zijn in de volgende tabel samengesteld (+ = duidelijke of sterke groei; ± = twijfelachtig; o = geen groei).

(N + C)-bronnen.		C-bronnen.	Pep- ton.	As- para- gine	Kali- ni- traat.	Gly- co- coll
Pepton »Witte«	o	Saccharose	+	+	+	+
Pepton »Cornélis«	o	Glucose	+	+	+	+
Caseine en Gluten-		Laevulose	+	+	+	+
caseine	o	Lactose	o	o	o	o
Albumine uit eiwit		Galactose	+	×	+	+
en uit eidooier	o	Maltose	o	o	o	o
Fibrine	o	Dextrine	o	o	o	o
Proteïne	o	Inuline	o	o	o	o
Gluten	±	Manniet	+	+	+	+
Glycocoll	o	Glycerine	+	+	+	+
Asparagine	±	Natriumcitraat	×	+	+	+
Tyrosine	o	„ tartraat	o	o	o	o
Ammoniumcitraat	+	» succinaat	+	+	+	+
» tartraat	o	» acetaat	+	+	+	+
» succinaat	×	» lactaat	+	+	+	+
» acetaat	×	» butyraat	+	+	+	+
» lactaat	o					

Diastase-productie komt bij *Pseudomonas Syringae* niet voor; het zetmeel wordt niet omgezet en heeft dus geen voedingswaarde voor deze bakterie.

Productie van zuren en alcaliën. Bij volkomen aëroben groei (streepcultuur) op vleeschagar + 5 % rietsuiker + lakmoes predomineert de alcalivorming: in den omtrek van de streep is na 24 uur bij 27° de paarse kleur in een blauwe overgegaan. In bouillon + 5 % rietsuiker predomineert echter de zuurvorming, althans na 2 weken (zie vloeistof B).

Ook bij culturen in verschillende vloeistoffen vertoont zich een weinig-intense zuurvorming door onvolledige oxydatie van koolhydraten, doch een somtijds sterke alcalivorming (eiwitsplitsing). Titratie na 14-dagen cultuur bij 27° in de volgende vloeistoffen gaf de daarachter vermelde waarden (deze zijn uitgedrukt in % normaaloplossing, + = zuur, — = alcalisch):

vloeistof A: — 2.4; — 3.3; — 2.6;

vloeistof B: + 0.5; + 0.4; + 0.5;

vloeistof C: — 3.0; — 1.7; — 2.4;

vloeistof D: — 1.9; — 3.2; — 2.1;

vloeistof E: + 0.8; + 0.8; + 0.9;

vloeistof F: + 0.2; + 0.1; + 0.2;

melk: zwak alcalisch of amphoter.

Productie van indol werd niet waargenomen. De indolreactie trad niet op in 2 weken oude culturen ni bouillon of in bouillon + 5 % pepton.

Productie van zwavelwaterstof heeft niet plaats bij cultuur in bouillon; na 14 dagen zijn de

in loodacetaat gedrenkte papiertjes nog volkomen wit.

Productie van gassen. Ps. *Syringae* ontwikkelde in geen der onderzochte vloeistoffen gas. Als voedingsvloeistoffen werden hiervoor gebruikt: duinwater + 0.025 % K_2HPO_4 + 1 % pepton, waaraan resp. was toegevoegd 3 % rietsuiker, 3 % glucose, 3 % manniet, 3 % galactose en 3 % glycerine. (maltose en lactose worden door deze bacterie niet geassimileerd),

Productie van glycogeen. Glycogeen laat zich noch in 2 dag oude saccharose-pepton-, noch in bouillon-culturen met jodium aantoonen.

Productie van vet is in bouillon-culturen niet waar te nemen; evenmin in saccharose-pepton-culturen.

Weerstandsvermogen tegen uitdroging. Ps. *Syringae* is bestand tegen uitdroging; het uitgedroogde materiaal heeft na 24 uur in bouillon een sterke troebeling doen ontstaan.

Invloed van zuren. Na eenige dagen treedt groei op in den bouillon, die met citroen- of appelzuur is aangezuurd totdat de reactie + 0.5 % n. is, soms treedt ook nog groei op in bouillon + citroen- of appelzuur van 1 % n.; in de bouillon van hooger zuurgehalte werd nooit troebeling waargenomen.

Opname van kleurstoffen. Ten opzichte der kleurbaarheid vertoonde zich bij Ps. *Syringae* niets merkwaardigs. Gentiaanviolet-aniline en fuchsine werden gemakkelijk opgenomen. GRAM's methode bewerkte geheele ontkleuring.

STELLINGEN.

I.

Obligaat-anaërobe bacteriën kunnen nooit als plantenparasieten optreden.

II.

De voeding der planten is van grooten invloed op haar vatbaarheid voor infectieziekten.

III.

De phytopatholoog heeft te zorgen, dat door zijn ziektebestrijding het ras of de soort niet verzwakt worde door het blijven leven van minder resistenten.

IV.

Noch over de functie noch over de wijze van ontstaan van het anthocyaan bestaat tot nu toe een bevredigende hypothese.

V.

De zetmeelkorrels in de zetmeelscheede van den stengel en in het mutsje van den wortel spelen geen rol bij de perceptie van den geotropischen prikkel.

VI.

Het verschil in structuur tusschen voorjaars- en najaarshout komt voornamelijk tot stand door het verschil in intensiteit van den sapstroom.

VII.

De Gymnospermen zijn Kryptogamen.

VIII.

Het is niet wenschelijk den pro-, den meso- en den metanephros als afzonderlijke, van elkaar onafhankelijke organen te beschouwen.

IX.

De zoogdieren laten zich beter van de Amphibiën dan van de Reptiliën afleiden.

X.

Dat bijen en wespen bij het terugvinden van hun nest (resp. vlieggat) geheel zouden geleid worden door de gezichtszintuigen, is onjuist.

XI.

Ten onrechte zegt DRIESCH: »Haben die vergleichenden Forscher auch aus tausend Beobachtungen »konstatiert«, dass A von B abhängt, und ein Experimentator findet, dass dem nicht so ist, so hat, ohne dass es der geringsten weiteren Diskussion bedürfte, der Experimentator Recht«. (Biolog. Centralbl. XIX 2. 1899.)

XII.

De academische opleiding der botanici is een onvoldoende voorbereiding voor de vorming van phytopathologen.



